



**Carolina Isabel Moura Pinheiro**      **Avaliação microbiana da flora nasofaríngea após terapia termal**



**Carolina Isabel Moura Pinheiro**      **Avaliação microbiana da flora nasofaríngea após terapia termal**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Microbiologia, realizada sob a orientação científica da Prof. Doutora Cândida Ascensão Teixeira Tomaz, Professora Associada do Departamento de Química da Universidade da Beira Interior, e coorientação da Prof. Doutora Maria Adelaide Pinho Almeida, Professora Auxiliar do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro.

## **o júri**

presidente

**Professora Doutor Paulo Cardoso da Silveira**

Professora Auxiliar do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro

arguente

**Prof. Doutor Rúben Fernandes**

Professor Auxiliar da Escola Superior de Tecnologia da Saúde do Porto, Instituto Politécnico do Porto

orientadora

**Prof. Doutora Cândida Ascensão Teixeira Tomaz,**

Professora Associada do Departamento de Química da Universidade da Beira Interior.

Coorientadora

**Prof. Doutora Maria Adelaide Pinho Almeida,**

Professora Auxiliar do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro.

## agradecimentos

Este espaço é dedicado às pessoas que deram a sua contribuição para que esta dissertação fosse realizada. A todos eles o meu agradecimento.

Em primeiro lugar agradeço à Prof. Doutora Cândida A. Teixeira Tomaz e à Professora Dr.<sup>a</sup> Adelaide P. Almeida a forma como orientaram o meu trabalho. As notas dominantes da vossa orientação foram fundamentais bem como as recomendações e a cordialidade com que sempre me receberam. Estou grata por ambas, e também pela liberdade de ações que me permitiram, que foi decisiva para que este trabalho contribuísse para o meu desenvolvimento pessoal.

Em segundo lugar agradeço ao Dr. Paulo Tavares, Diretor do Serviço de Patologia Clínica ULS Guarda, o grande impulsionador deste projeto. Obrigada pela orientação pelos bons conselhos, pelas horas de sabedoria transmitida e pelas ideias inovadoras.

Agradeço também à Dr.<sup>a</sup> Fátima Vale pela ajuda para a realização deste projeto e pela sua grande “sabedoria microbiológica”.

À equipa de Técnicos de Diagnóstico e Terapêutica, Técnicos Superiores e Auxiliares do Serviço de Patologia Clínica ULS Guarda. Ao Hélder, Técnico de Investigação da Universidade da Beira Interior. Um muito obrigada para vocês, sem a vossa preciosa ajuda seria tudo mais difícil.

Agradeço ainda à equipa do Cró, em especial ao Dr. Santos Silva e restante equipa médica pela ajuda e dedicação a este trabalho. Agradeço ainda ao Nuno, á Susana, á Sofia e ao Rui, para vocês um grande obrigada,

A todos os meus amigos, com especial agradecimento à Rita e à Tânia pelo apoio e pelas infinitas horas de dedicação e bons conselhos. Agradeço ainda á Margarida pelos teus conhecimentos informáticos.

Gostaria ainda de agradecer à minha mãe, a minha grande heroína, pois sem ela nada disto era possível. Obrigada pela coragem e determinação que me transmitiste ao longo de toda a minha vida. Obrigado a ti minha estrelinha que mesmo longe me continuas a ensinar o caminho e sempre acreditas-te que eu ia crescer.

A ti Bruno, simplesmente por me deixares fazer parte da tua vida, transmitindo-me determinação, força e muito animo, e por todo o carinho e apoio incondicional, assim é mais fácil ser feliz...

Deixo também uma palavra de agradecimento a todas as pessoas que estiveram envolvidas em todo o meu percurso ao longo deste ano em especial ao pai Pinha e à mãe Olga pelas horas de ouvinte e boa conselheira.

## palavras-chave

Termalismo, água sulfúrea, terapia termal, patologias do trato respiratório superior, rinite alérgica, rinosinusite, sinusite

## resumo

Atualmente, cerca de 100 mil portugueses, por ano, frequentam estâncias termais, a maioria deles com idades compreendidas entre os 45 e os 64 anos de idade. A atividade termal está historicamente ligada ao setor da saúde e à prestação de cuidados nesta área. A Estância Termal do Cró caracteriza-se pela sua água tipo sulfúrea que pelas suas propriedades está indicada para tratamento de problemas músculo-esqueléticos e respiratórios. As patologias crónicas do trato respiratório, fazem mais de quatro milhões de vítimas por ano e afetam centenas de milhões de pessoas, prejudicando a saúde e o bem-estar dos indivíduos. As patologias do trato respiratório superior são clinicamente definidas como um processo inflamatório nasal, sintomático e crónico e caracterizam-se por uma sintomatologia variada resultante das alterações teciduais das vias respiratórias superiores.

O objetivo deste estudo foi a avaliação do efeito terapêutico das águas da Estância Termal do Cró em doenças do trato respiratório superior através da análise da flora microbiana nasal e da orofaringe dos indivíduos com estas patologias, antes e após o tratamento termal, bem como identificar e caracterizar a variabilidade de microrganismos existentes.

A população em estudo consistiu em 50 termalistas aos quais foram recolhidos exsudados nasais e da orofaringe. Foi efetuado um controlo no início da terapêutica termal e outro no final do tratamento. Definiram-se essencialmente três fases no processo: recolha e seleção da população-alvo; colheita dos exsudados; isolamento e identificação microbiana.

Os resultados obtidos mostraram diferenças entre os dois momentos de avaliação, verificando-se uma diminuição da colonização bacteriana após o tratamento termal. De facto, a percentagem de casos com teores superiores a 500 UFC diminuiu, assim como a proporção de casos com contagens entre 100 e 500 e inferiores a 50 UFC/. Na flora nasal verificou-se a diminuição do teor de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* coagulase negativos e *Streptococcus*  $\alpha$  hemolítico e na flora da orofaringe ocorreu uma diminuição da colonização por *Neisseria* e *Staphylococcus* coagulase negativos).

A ação da água termal do tipo sulfúrea causou uma diminuição global da colonização bacteriana após o tratamento termal. Tendo em conta o papel de microrganismos como *Staphylococcus* coagulase negativo e do *Staphylococcus aureus* em patologias como a Rinite Alérgica e a Rinosinusite e à luz da bibliografia atual sugere-se que a diminuição da colonização destes microrganismos conduz a um decréscimo do processo inflamatório e consequentemente à diminuição da sintomatologia associada ao curso da doença. Desta forma pode concluir-se que a água termal do tipo sulfúrea exerce um efeito antimicrobiano nas patologias do trato respiratório superior.

## keywords

sulphurous thermal water , upper respiratory tract diseases, thermal therapy, allergic rhinitis, allergic rhinitis , rhinosinusitis , sinusitis

## abstract

Currently, about 100 thousand Portuguese, by year, are attending spa and most of them aged between 45 and 64 years old. The thermal activity is historically connected to the health setor and to the provision of care in this area. The Cró spa is characterized by its sulphurous water that is indicated for the treatment of musculoskeletal and respiratory disorders, such as rhinitis, sinusitis and rhinosinusitis. This type of chronic respiratory diseases affect four million people each year damaging their health and well-being. The upper respiratory tract diseases are clinically defined as a nasal inflammation, symptomatic and chronic process and they are characterized by a variety of symptoms resulting from changes in upper airway tissue.

The aim of this study was to evaluate the therapeutic effect of thermal water of Cró in upper tract respiratory diseases. The research was to evaluate the changes in nasal and oropharynx bacterial flora in patients with these pathologies before and after thermal treatment, as well as identify and characterize the variability of microorganisms.

The study population consisted of 50 individuals with rhinitis, sinusitis and rhinosinusitis. Nasal and oropharyngeal samples were collected with swabs at the beginning and at end of thermal treatment. Three main strategies were defined for the study: collection and selection of the target population; collect swabs, microbial isolation and identification.

The results showed that there was a reduction in microbial colonization after thermal treatment fact, the percentage of cases with levels above 500 CFU decreased and the proportion of cases with scores between 100 and 500 and less than 50 CFU. In nasal flora, it was found a decrease in the level of *S. aureus*, coagulase-negative *Staphylococcus* and  $\alpha$ -hemolytic *Streptococcus*. On the other hand, in oropharynx flora a decrease in colonization by coagulase-negative *Staphylococcus* and *Neisseria* was observed.

The action of sulphurous thermal water showed a reduction of bacterial colonization after thermal treatment. Taking into account the role of microorganisms, such as coagulase-negative *Staphylococcus* and *S. aureus* in the pathogenesis of diseases such as allergic rhinitis and rhinosinusitis and in the light of current literature, it can be suggested that the reduction of colonization of these microorganisms can lead to a decrease of the inflammatory process and therefore to the reduction of symptoms associated with the course of the disease. Thus, it can be concluded that sulphurous thermal water have antimicrobial effect in upper tract respiratory diseases.

“Posso ter defeitos, viver ansioso e ficar irritado algumas vezes,  
Mas não esqueço de que minha vida  
É a maior empresa do mundo...  
E que posso evitar que ela vá à falência.  
Ser feliz é reconhecer que vale a pena viver  
Apesar de todos os desafios, incompreensões e períodos de crise.  
Ser feliz é deixar de ser vítima dos problemas e  
Se tornar um autor da própria história...  
É atravessar desertos fora de si, mas ser capaz de encontrar  
Um oásis no recôndito da sua alma...  
É agradecer a Deus a cada manhã pelo milagre da vida.  
Ser feliz é não ter medo dos próprios sentimentos.  
É saber falar de si mesmo.  
É ter coragem para ouvir um “Não”  
É ter segurança para receber uma crítica,  
Mesmo que injusta...”

Pedras no caminho?  
Guardo todas, um dia vou construir um castelo...”

*Fernando Pessoa*

## Índice Geral

I- Introdução .....	1
1.1 Termalismo.....	3
1.1.1 Termalismo em Portugal.....	3
1.1.2 Definição e enquadramento legal.....	4
1.1.3 Origem e classificação da água mineral natural .....	7
1.1.4 Complexo Termal do Cró .....	9
1.1.4.1. Breve história.....	9
1.1.4.2 Modelo Hidrogeológico.....	10
1.1.4.3 Águas Sulfúreas Sódicas .....	11
1.1.4.3.1 Descrição/composição química.....	11
1.1.4.3.2 Indicações terapêuticas e contraindicações .....	13
1.1.5 Eficácia da Crenoterapia em patologias do trato respiratório superior.....	15
1.2 Sistema Respiratório .....	18
1.2.1 Patologias do Trato respiratório Superior:.....	19
1.2.1.1 Rinite Alérgica.....	19
1.2.1.2. Sinusite .....	22
1.2.1.3 Rinossinusite.....	23
1.2.2 A flora microbiana no trato respiratório superior .....	24
1.2.2.1. <i>Staphylococcus</i> .....	27
1.2.2.2. <i>Streptococcus</i> .....	29
1.2.2.3. <i>Haemophilus</i> .....	30
1.2.2.4. <i>Neisseria</i> .....	31
1.3 Modos de ação e técnicas de administração no trato respiratório – Técnicas de Otorrinolaringologia (ORL) .....	32
1.4 Objetivos .....	34
II- Material e Métodos .....	35
2.1 Local do Estudo.....	36
2.2 Caracterização da Amostra.....	36
2.2.1 Critérios de seleção da amostra .....	37
2.3 Colheita da amostra biológica.....	37
2.4 Processamento da amostra biológica.....	38



2.5 Caracterização fenotípica .....	39
2.5.1 Coloração de Gram .....	39
2.5.2 Análise macroscópica dos microrganismos .....	40
2.5.3 Prova da Catalase .....	41
2.5.4 Prova da Oxidase .....	42
2.5.5 Identificação por testes de aglutinação .....	42
2.6 Identificação Bioquímica Automatizada.....	43
2.7 Tratamento Estatístico.....	44
III- Resultados e Discussão.....	46
3.1 Caracterização da população em estudo.....	47
3.2 Caracterização da flora microbiana nasal e da orofaringe antes e após tratamento termal.....	51
3.4 Avaliação da colonização global nasal e da orofaringe, antes e após tratamento termal.....	62
3.3 Avaliação da colonização global nasal e da orofaringe, antes e após tratamento termal, em função dos problemas respiratórios.....	64
IV- Conclusão .....	68
V- Perspetivas Futuras .....	70
VI- Referências Bibliográficas.....	72
VII- Anexos.....	81

## Índice de Figuras

Figura 1. 1 - Estabelecimentos termais por Nomenclatura Comum das Unidades Territoriais Estatísticas (Norte, Centro, Lisboa e Vale do Tejo, Alentejo e Algarve) cota 2009.....	3
Figura 1. 2 - Limites máximos em miligrama por litro dos constituintes que podem representar um risco para a saúde pública (Decreto - Lei n.º 72/2004).....	6
Figura 1. 3 - Modelo Hidrogeológico Termas do Cró.....	11
Figura 1. 4- Boletim de análises Químicas da água das Caldas do Cró Colheita de 5 de julho de 2011 (Câmara Municipal do Sabugal, 2011) .....	13
Figura 1. 5 Reação do sistema imunitário à exposição ao alérgeno – mediadores. ....	21
Figura 1. 6 - Flora microbiana do Trato Respiratório Superior.....	26
Figura 2. 1 - Esquema da colheita de exsudado da região posterior da orofaringe, com zaragatoa.....	37
Figura 2. 2- Técnica de sementeira em placa de meio sólido. ....	38
Figura 3. 1 - Inquiridos segundo o sexo .....	47
Figura 3. 2 - Inquiridos segundo o grupo etário .....	48
Figura 3. 3- Inquiridos segundo os problemas respiratórios .....	48
Figura 3. 4 -. Inquiridos segundo a recomendação do tratamento termal .....	49
Figura 3. 5 - Inquiridos segundo o tempo de prática de termalismo .....	50
Figura 3. 6-. Teor de <i>Staphylococcus</i> coagulase negativos na flora nasal antes e após o tratamento termal.....	52
Figura 3. 7-. Teor de <i>Staphylococcus</i> coagulase negativos na flora da orofaringe antes e após o tratamento termal.....	52
Figura 3. 8 - Teor de <i>S. aureus</i> na flora nasal antes e após o tratamento termal .....	53
Figura 3. 9 – Teor de <i>Streptococcus</i> $\alpha$ hemolítico antes e após o tratamento termal .....	56
Figura 3. 10 - Teor de <i>Neisseria</i> na flora da orofaringe antes e após o tratamento termal..	58
Figura 3. 11- Teor global das estirpes na flora nasal no início e no fim do tratamento .....	63
Figura 3. 12 – Teor global das estirpes na flora nasal, antes e após o tratamento termal e em função da patologia.....	64
Figura 3. 13 -. Teor global das estirpes na flora nasal antes e após o tratamento termal e em função do facto do tratamento termal ser, ou não, a única terapêutica.....	66
Figura 3. 14 - Inquiridos segundo a situação em que recorrem ao tratamento termal.....	66
Figura 3. 15 - Eficácia do tratamento termal na melhoria da qualidade de vida.....	67

## Índice de Tabelas

Tabela 2. 1 - Identificação de microrganismos.....	41
Tabela 2. 2 - Requisitos de cultura para a execução de uma carta de identificação.....	44
Tabela 3. 1- Teor de <i>S. aureus</i> na flora da orofaringe antes e após o tratamento termal....	53
Tabela 3. 2- Teor de <i>Streptococcus α</i> hemolítico na flora da orofaringe antes e após o tratamento termal.....	57
Tabela 3. 3- Teor de <i>Neisseria</i> na flora nasal antes e após o tratamento termal .....	58
Tabela 3. 4- Bacilos Gram positivos em função da flora antes e após tratamento termal..	59
Tabela 3. 5 – Outros microrganismos em função da flora antes e após tratamento termal.	60
Tabela 3. 6 - Número de casos em que se verificou diminuição do teor de cocos Gram positivos.....	61
Tabela 3. 7- Número de casos em que se verificou diminuição do teor de cocos Gram negativos.....	61
Tabela 3. 8 - Teor global das estirpes na flora da orofaringe no início e no fim do tratamento. ....	63

## **Lista de abreviaturas**

CLSI – *Clinical and Laboratory Standards Institute*

COS – Gelose de Columbia + 5% de Sangue de Carneiro

CysLTs - Leucotrienos

DGEG – Direção Geral de Energia e Geologia

DGS – Direção Geral de Saúde

ECRHS - *The European community respiratory health survey*

GARD – *Global Alliance Against Chronic Respiratory Diseases*

GN - Gram Negativos

GP - Gram Positivos

GNI – Identificação Gram Negativos

GPI - Identificação Gram Positivos

IgA – Imunoglobulina - A

IgE – Imunoglobulina- E

IL –Interleucina

ISSAC – *International Study of Asthma and Allergies in Childhood*

INF – Interferon

MSCRAMMs - *Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules*

NH - *Neisseria e Haemophilus*

NHI - Identificação de *Neisseria e Haemophilus*

OMS – Organização Mundial de Saúde

ORL - Otorrinolaringologia

PNCI - Programa Nacional de Controlo de Infecções

PVX – Gelose de Chocolate Polyvitex

ROS – Espécies Reativas de Oxigénio

SE – Enterotoxina Estafilocócica

*Spa* - *Sanus per aquam*; Saúde pela água; termas

SPSS - *Statistical Package for the Social Science*

Th1 – Células T helper 1

Th2 – Células T helper 2

TSST- Toxina do Síndrome do choque tóxico

UFC – Unidades Formadoras de Colónias

## I- Introdução

---

O termalismo surge na atualidade como uma inquestionável realidade da saúde. O conhecimento da ação terapêutica das águas termais tem sido, até aos dias de hoje, essencialmente empírico confirmado ao longo dos séculos. A sua evolução decorre da transformação do conhecimento científico e das circunstâncias culturais, sociais e económicas. Embora o seu valor terapêutico seja, na maioria, reconhecido, a falta de evidências científicas que o comprovem é uma verdade inerente ao fenómeno termal. Trata-se pois, de um fenómeno ainda insuficientemente compreendido e talvez, por isso, não totalmente aceite pela comunidade científica (Vieira, 2008).

Portugal é, juntamente com a Itália e Alemanha, um dos países europeus mais ricos em águas minerais naturais, tanto pela quantidade de nascentes como pela qualidade das águas. Atualmente, cerca de 100 mil Portugueses, por ano, frequentam estâncias termais, a maioria deles com idades compreendidas entre os 45 e os 64 anos de idade (Portugal, 2007). Neste sentido, a atividade termal está historicamente ligada ao setor da saúde e à prestação de cuidados nesta área. A crenoterapia (conjunto de atividades terapêuticas desenvolvidas numa estância termal) constitui assim uma abordagem reconhecida de indicação e uso de águas minero-medicinais, de maneira complementar aos demais tratamentos de saúde (Amaral, 2010).

As doenças das vias respiratórias constituem um dos principais motivos de procura de tratamentos termais. São particularmente as águas sulfúreas, como as das Termas do Cró, as que melhores resultados evidenciam neste grupo de patologias. Estudos evidenciam o efeito terapêutico de águas sulfúreas sobre a inflamação das vias aéreas superiores.

As doenças respiratórias crónicas como a rinite alérgica, rinossinusite e a sinusite são uma consequência do mundo moderno atual. Atingem mais de quatro milhões de vítimas por ano e afetam centenas de milhões de pessoas. Estas doenças prejudicam a saúde e o bem-estar dos doentes e têm um impacto negativo na família e na sociedade. O termalismo surge assim acrescentando novas indicações terapêuticas a este grupo de patologias. (OMS e DGS, 2008).

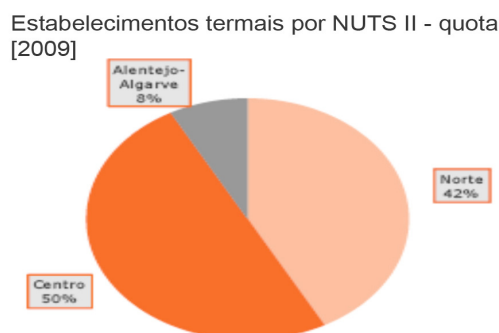
Numa época em que o termalismo se está a revitalizar, tanto na sua vertente medicinal, como na sua vertente turística, esta investigação visa contribuir para o estudo da ação terapêutica das águas termais e associar princípios objetivos e científicos ao termalismo.

## 1.1 Termalismo

### 1.1.1 Termalismo em Portugal

Portugal tem longa tradição no uso de águas minerais para fins medicinais. As estâncias termais portuguesas encontram-se distribuídas, maioritariamente, pela região norte e centro do país. Tendo em conta a caracterização, verifica-se que as nascentes termais se localizam principalmente na zona norte e centro do Maciço Hespérico, designadamente na Zona Centro-Ibérica, estando a sua distribuição intimamente relacionada com grandes acidentes tectónicos. As nascentes localizadas nas Orlas Meso-Cenosóicas Ocidental e Meridional estão relacionadas com falhas ativas ou diapiros salinos, verificando-se, na maioria dos casos, a concorrência de ambos. Desta forma a atividade geotérmica de Portugal encontra-se relacionada com a dinâmica de tectónica de placas que caracteriza o nosso país. Segundo os últimos dados da Direção Geral de Energia e Geologia (DGE), em 2009 Portugal tinha 38 estabelecimentos termais ativos, dos quais, 19 localizados na região Centro (50% do total de estabelecimentos), 16 no Norte (42%) e 3 nas regiões do Alentejo e Algarve (Figura 1.1) (Silva, 2010).

Neste sentido, numa época em que o termalismo se está a revitalizar, tanto na sua vertente medicinal como na sua vertente turística, Portugal é um dos países da Europa em que surge o novo paradigma termal associado à evolução do conceito de termalismo e à problemática da insuficiência de evidências científicas nesta área.



**Figura 1. 1** - Estabelecimentos termais por Nomenclatura Comum das Unidades Territoriais Estatísticas (Norte, Centro, Lisboa e Vale do Tejo, Alentejo e Algarve) cota 2009. (Silva, 2010)



### 1.1.2 Definição e enquadramento legal

O desenvolvimento da medicina e da farmacologia tornou possível o tratamento de várias patologias de forma rápida e eficaz, permitindo um aumento da esperança média de vida e a sobrevivência em muitas situações outrora letais. Por outro lado, condicionou uma maior evolução para a cronicidade de muitas doenças. Esta evolução farmacológica e biológica levou a que a medicina termal, procedimento terapêutico reconhecido pela Organização Mundial de Saúde (OMS), perdesse algumas das suas áreas de interesse. No entanto, apesar de alguns problemas serem, por um lado, facilmente resolúveis pela terapêutica farmacológica há, por outro lado, cada vez mais efeitos adversos associado ao uso dos fármacos, o que abriu novas possibilidades na área da medicina preventiva e da medicina de reabilitação.

Atualmente, revela-se fundamental a distinção de conceitos como a hidroterapia, balneoterapia, "Spa" e hidrologia médica, uma vez que são conceitos usados de forma indiscriminada e não reconhecidos como independentes a um nível global. Por um lado, pela falta de evidências científicas e, por outro, pela inexistência de métodos únicos e conceituais definidos universalmente (Bender, *et al.*, 2005).

Neste sentido, entende-se por **Hidroterapia** o tratamento com água sob diversas formas e a temperaturas variáveis. Consiste na utilização externa da água corrente para uso terapêutico, utilizando as propriedades físicas da água como a temperatura, a pressão hidrostática, a pressão hidrodinâmica, viscosidade e condutividade. Já a **Hidrologia Médica** refere-se à utilização terapêutica específica da água mineral natural, que pode ser aplicada interna ou externamente. É, pois, a ciência que se dedica ao conhecimento médico da água e inclui um conjunto de tratamentos realizados em balneário - **Balneoterapia/Crenoterapia** (Jackson, 1990, Bender, *et al.*, 2002, Nasermoaddeli e Kagaminor, 2005).

Define-se por Balneoterapia não só o tratamento de diversas patologias utilizando a água mineral natural, mas também todas as medidas terapêuticas praticadas nos balneários, incluindo-se, portanto, a ingestão e inalação da água, o emprego de peloides e o aproveitamento dos fatores climáticos envolventes. É comum dividirem-se as técnicas de Balneoterapia em:

- a) Técnica de administração interna - utiliza especificamente os efeitos dependentes da composição físico-química das águas minerais naturais nomeadamente, a ingestão oral de água (Hidropinia), a ingestão de água mineral natural e administração colo-retal de água
- b) Técnicas de administração externa – para além das propriedades físico-químicas da água mineral natural, aproveitam-se também fatores hidrodinâmicos e hidrotérmicos comuns a toda a hidroterapia. Aqui poderão incluir-se banhos, duches, vapores, aplicações de contraste, peloides e técnicas respiratórias, também designadas técnicas de otorrinolaringologia (Técnicas de ORL)(ATP, 2011)

Por último, o conceito de “*Spa*”, (“Saúde pela água”) mais abrangente, engloba a hidroterapia, a balneoterapia e ainda o uso da água para fins de relaxamento.

Neste sentido, podem ser considerados duas vertentes do termalismo:

- a) termalismo “clássico” que consiste numa terapêutica específica para determinada patologia.
- b) termalismo de “bem-estar” mais ligado a programas de relaxamento, lazer, prevenção da doença ou mesmo cuidados estéticos como massagens, tratamentos de lama e exercício físico.

A atividade termal está historicamente ligada ao setor da saúde e à prestação de cuidados nesta área, o que tem vindo a refletir-se na legislação que regula o setor há vários anos, com destaque para o Decreto-lei nº 142/2004, de 11 de junho. Segundo o disposto no Artigo 2º do mencionado Decreto-lei define-se por termalismo “*o uso da água mineral natural e outros meios complementares para fins de prevenção, terapêutica, reabilitação ou bem-estar, sendo o tratamento termal o conjunto de ações terapêuticas indicadas e praticadas a um termalista, sempre sujeito à compatibilidade com as indicações terapêuticas que foram atribuídas ou reconhecidas à água mineral natural utilizada para esse efeito*” (Ministério, 2004) . De acordo com o Artigo 3º do Decreto-lei 90/90 de 16 de março Água Mineral Natural é uma “*água considerada bacteriologicamente própria, de*

*circulação profunda, com particularidades físico-químicas estáveis na origem dentro da gama de flutuações naturais, de que resultam propriedades terapêuticas ou simplesmente efeitos favoráveis à saúde*”. Assim, água termal tem uma composição química única, o que lhe confere propriedades medicinais particulares. Estas águas têm de ser provenientes duma nascente reconhecida por uma entidade oficial, isenta de qualquer tipo de tratamento que alterem as suas características naturais, devendo estar livre de qualquer contaminação (Ministério, 1990).

Existem contudo alguns parâmetros presentes em determinadas águas minerais no seu estado natural que podem representar um risco para a saúde pública a partir de uma certa concentração (Figura 1.3). Deste modo, está previsto no Decreto-Lei n.º 72/2004 de 25 de março, a possibilidade de separar constituintes como o ferro, o manganês, o enxofre e o arsénio de determinadas águas minerais naturais através de um tratamento com ar enriquecido em ozono (Ministério, 2004).

Constituintes	Limites máximos (miligramas/litros)
Antimónio .....	0,005 0
Arsénio .....	0,010 (total)
Bário .....	1,0
Boro .....	(*) P. M.
Cádmio .....	0,003
Crómio .....	0,050
Cobre .....	1,0
Cianeto .....	0,070
Fluoretos .....	5,0
Chumbo .....	0,010
Manganês .....	0,50
Mercurio .....	0,001 0
Níquel .....	0,020
Nitratos .....	50
Nitritos .....	0,1
Selénio .....	0,010

**Figura 1. 2** - Limites máximos em miligrama por litro dos constituintes que podem representar um risco para a saúde pública (Decreto - Lei n.º 72/2004).

Naturalmente que o tipo de água condiciona o tipo de tratamento. Assim sendo, cada estância termal tem a sua vocação terapêutica, reconhecida, regulamentada e publicada em Diário da República, de acordo com as características das suas águas. Atualmente, não existe um critério europeu em relação ao uso das águas minerais naturais para tratamentos termiais, a União Europeia apenas regulamenta as menções indicativas à exploração e comercialização de águas minerais naturais (Diretiva 2009/54/CE do parlamento Europeu e do conselho de 18 de junho de 2009) (Europeu e Europeia, 2009).

### **1.1.3 Origem e classificação da água mineral natural**

A água subterrânea, na qual se incluem as águas termais, constitui um recurso natural imprescindível para a vida e para a integridade dos ecossistemas, representando mais de 95% das reservas de água doce exploráveis do globo terrestre. Esta água tem origem na profundidade da crosta terrestre e devido a elevados valores de temperatura e pressão, encontra uma fenda da crosta terrestre e eleva à superfície, estando em contacto com diversos tipos de substâncias. Desta forma, a água adquire uma composição química variável conforme a sua precedência e conforme o tipo de substâncias com que esteve em contacto. O contacto com a atmosfera conduz também à dissolução dos gases constituintes: oxigénio, azoto, dióxido de carbono, gases inertes, etc., que aparecem nas águas em proporções variáveis, dependendo da composição química da atmosfera, da temperatura e da pressão (LNEG, 2001, APRH, 2008).

Raramente as águas minero-medicinais têm apenas um elemento característico, têm sim um conjunto de iões e catiões que quando existe a predominância de um, se unem e constituem características químicas únicas e particulares dessa água. Há, no entanto, outros constituintes que caracterizam uma água, mesmo quando presentes em quantidades vestígias. Desta forma, estas águas podem classificar-se de acordo com a temperatura de emergência, o pH, o potencial redox, a radioatividade e a sua composição química (Pereira, 1991).

Segundo o Instituto de Hidrologia de Lisboa, quanto à temperatura de emergência pode-se dividir as águas em: águas hipotermas (temperatura de emergência inferior a 25°C), mesotermas (temperatura de emergência entre 25 e 35°C), termais (temperatura de emergência entre 35 e 40°C) e hipertermas (temperatura de emergência superior 40°C)(ATP, 2011).

De acordo com o pH, estas águas são classificadas como ácidas se o pH for inferior a 7, neutras quando o pH é igual a 7 e alcalinas caso o pH seja superior a 7. O potencial redox está intimamente relacionado com o pH das águas. A pH 7 consideram-se águas redutoras aquelas que apresentarem um potencial redox inferior a 0,4V e oxidantes as que tiverem um potencial redox superior a 0,4V. A radioatividade destas águas está relacionada com a atividade do gás radão dissolvido. O radão é um gás incolor e inodoro, muito mais denso

que o ar, que resulta da desintegração radioativa do urânio. Quando a atividades deste gás dissolvida na água for superior a 5 nanocuries/litro, a água é considerada radioativa (Pereira, 1991).

Simões (1993), baseado na classificação do Instituto de Hidrologia de Lisboa e atendendo à composição química das águas, propôs a existência de seis grandes classes de águas minerais naturais:

- a) **Águas hipossalinas**, cuja mineralização total é inferior a 200 mg/l. Diferenciam-se as que têm mineralização total até cerca de 50 mg/l, pH < 6, dureza < 1 e percentagem de sílica muito elevada (> 30%), daquelas cuja mineralização total é > 100 mg/l, pH > 6, dureza > 1 e cuja percentagem de sílica é muito mais baixa;
- b) **Águas sulfúreas**, as que contêm formas reduzidas de enxofre. Neste grupo podem ser diferenciadas: (i) as *sulfúreas primitivas* (em que ainda há a distinguir as de pH < 8,35 e pH > 8,35), (ii) as que não apresentam valores característicos das sulfúreas primitivas em alguns parâmetros, e, (iii) as *sulfúreas de transição*. As sulfúreas primitivas têm como iões dominantes, o Hidrogenocarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) e o Sódio ( $\text{Na}^+$ ), altas percentagens de sílica e flúor, são fracamente mineralizadas e têm dureza muito baixa;
- c) **Águas gasocarbónicas** caracterizadas por terem mais de 500 mg/l de  $\text{CO}_2$  livre. São hipersalinas, o anião dominante é o  $\text{HCO}_3^-$  o catião dominante é o  $\text{Na}^+$  (raramente o  $\text{Ca}^{2+}$ ), têm baixa percentagem de sílica (inferior 4%), baixa percentagem de flúor (inferior a 1,5 %) e a razão alcalinidade/resíduo seco é muito elevada (> 16). Há a distinguir. (i) as *hipotermais* com pH de 6 (sódicas ou cálcicas), (ii) das *hipertermais* com pH de 7 (sódicas);
- d) **Águas bicarbonatadas**, cujo ião dominante é o  $\text{HCO}_3^-$ . São hipotermais, pH igual a 7, dureza total com valores elevados e percentagens de sílica e flúor muito baixas. Há a distinguir: (i) as *cálcicas*, fracamente mineralizadas, (ii) das *mistas* (sódico-cálcicas), mesossalinas.

- e) Águas cloretadas, cujo ião dominante é o cloreto ( $\text{Cl}^-$ ). O catião dominante é o  $\text{Na}^+$ , com percentagens muito baixas de sílica e flúor, mesotermiais. Há a distinguir as hipersalinas com pH igual a 7, das fracamente mineralizadas de pH superior a 7;
- f) Águas sulfatadas, cujo ião dominante é o sulfato. São hipersalinas, hipotermiais, catião dominante  $\text{Ca}^{2+}$ , percentagens de sílica e flúor muito baixas e muito duras (Simões, 1993, ATP, 2011).

Em relação à presença de espécie vestígias as águas termais são referidas como: sulfúreas, contêm o ião  $\text{HS}^-$ ; sulfídricas, quando apresentam o ácido  $\text{SH}_2$  livre e tiosulfato; férreas, quando exibem um teor do ião  $\text{Fe}^{2+}$  superior a 3mg/l; alumínicas, em que o teor do ião  $\text{Al}^{3+}$  é superior a 1mg/l; fluoretadas, quando o nível do ião fluoreto é superior a 1mg/l; silicatadas, contêm um valor de  $\text{SiO}_2$  superior a 100mg/l; litiadas apresentam uma concentração de lítio superior a 3 mg/l; e por fim as arsenicais, que apenas contêm vestígios de arsénio na sua composição (Pereira, 1991).

De notar que, esta classificação é a classificação adotada atualmente pela Direção Geral da Saúde (DGS), organismo tutelado pelo Ministério da Saúde (Simões, 1993).

## 1.1.4 Complexo Termal do Cró

### 1.1.4.1. Breve história

As termas do Cró estão localizadas nas freguesias da Rapoula do Coa e do Seixo do Coa, conselho do Sabugal, Distrito da Guarda.

O uso das águas minero-medicinais do Cró é antiquíssimo, podendo mesmo remontar aos romanos. No entanto, a sua referência mais antiga data de 1726, em que já então se falava dos notáveis efeitos curativos dos banhos destas águas e da necessidade de se criarem aí instalações apropriadas (Alexandre, 2003).

Em 1956, a exploração das termas inicia um período de grande atividade, quando a sociedade de Produção e Educação Social, ligada à obra do Instituto de S. Miguel, na

Guarda, adquire todo o património, incluindo o alvará. As Termas do Cró funcionaram então em pleno até à morte de um dos fundadores, verificando-se em seguida um declínio que culminou com a total inativação das instalações após o “25 de Abril. O Município do Sabugal readquiriu o local em 1980 e iniciou uma nova era de reabilitação e dinamização, com um contrato de concessão de exploração assinado em 28 de março de 2001. Fez-se também a captação da água em dois furos, que foram denominados por ACP1 e APC2, dos quais é captada a água para os tratamentos hidroterápicos realizados atualmente num moderno balneário, local onde se podem fazer os mais variados tratamentos respiratórios, músculo-esqueléticos e de bem-estar (Alexandre, 2003, Manso e Manso, 2008).

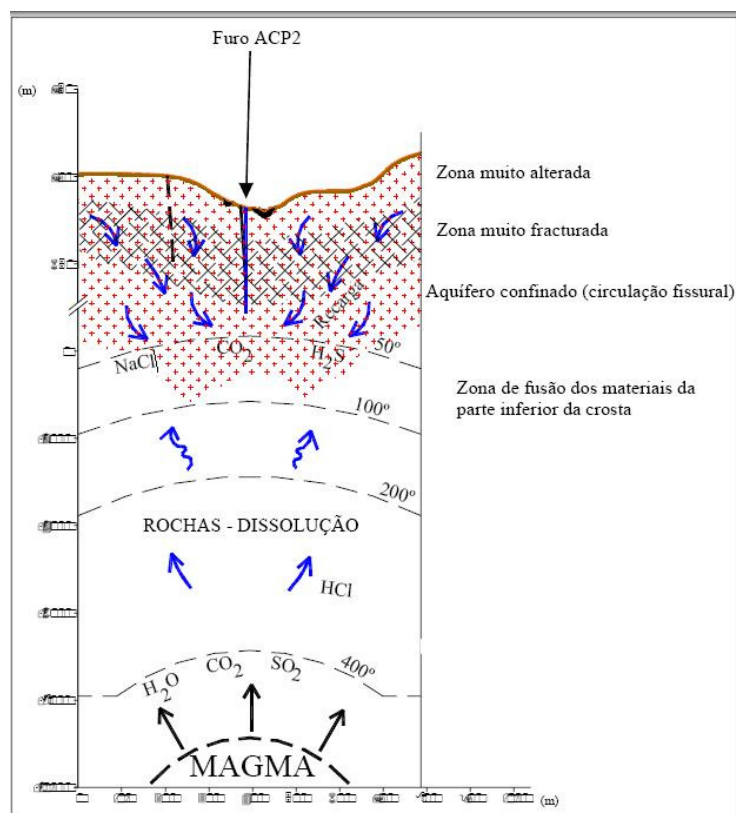
Relativamente às suas águas, estas são de natureza “bicarbonatada sódica, carbonatada, fluoretada e sulfidratada, com uma estrutura tipo águas sulfúreas. Apresentam uma mineralização total de cerca de 373 mg/l, uma condutividade aproximadamente de 400  $\mu\text{Scm}^{-1}$  e um pH, à temperatura de 18° C, de aproximadamente 8,21 (Sabugal, 2006).

São consideradas especialmente indicadas, de acordo com o disposto no despacho nº 8047/2008, de 18 de março, no tratamento de pele, patologias músculo-esqueléticas (reumatismo) e do foro respiratório (rinite, sinusite, bronquite, asma, laringite e faringite) (Sáude, 2008, Mais, 2011).

#### **1.1.4.2 Modelo Hidrogeológico**

As Caldas do Cró situam-se numa área topograficamente bem marcada, em região de natureza essencialmente granítica, com afloramentos dispersos e ocasionais de xistos alterados. A mineralização desta água subterrânea pode explicar-se por dissolução das rochas envolvidas e pelo tempo de contacto da água nos circuitos que, regra geral, estão intimamente ligados aos aglomerados graníticos. A composição gasosa e química da água, a sua temperatura, o seu carácter redutor; o pH acentuadamente alcalino e temperaturas de emergência normalmente acima da temperatura média anual do ar da região do Cró só fazem sentido se se admitir por um lado, a hipótese de existência de processos magmáticos em profundidade, filões de quartzo hidrotermal (Figura 1. 4), e por outro lado a existência fenómenos tectónicos de grande envergadura (Calado, 1995).

O modelo hidrogeológico atualmente aceite para as termas do Cró parece ser idêntico ao que muitos autores preconizam para as águas minerais sulfúreas da região hidrogeoquímica da Zona Centro – Ibérica (Cavaleiro, *et al.*, 2006).



**Figura1. 3** - Modelo Hidrogeológico Termas do Cró. (Cavaleiro *et al.*, 2006)

### 1.1.4.3 Águas Sulfúreas Sódicas

#### 1.1.4.3.1 Descrição/composição química

As águas minero-medicinais sulfúreas sódicas têm origem profunda, composição e temperatura constante e são bacteriologicamente puras. Caracterizam-se pela presença de formas reduzidas de enxofre, elevado teor de sílica, de ião flúor e pH elevado.

Neste sentido, este tipo de águas caracterizam-se não apenas pelo conhecido cheiro a "ovos podres", mas por um conjunto de parâmetros físico-químicos que as distinguem de outras águas com cheiro idêntico, nomeadamente, cheiro fétido (a gás sulfídrico), mais ou menos



intenso, na emergência; pH francamente alcalino, na maioria dos casos entre 8 e 9,5; mineralização total moderada, geralmente entre 200 e 500 mg/l; presença de enxofre no estado reduzido em solução (geralmente sob a forma de  $\text{HS}^-$ , mas com  $\text{SO}_4^{2-}$ ); teores elevados de flúor (entre 10 e 25 mg/l); teores discretos de  $\text{NH}_4^+$  (em geral entre 0,1 e 0,6 mg/l), mas sem acompanhamento dos iões nitrato e nitrito (Diegues e Martins, 2010).

Quanto à presença de iões verificam-se em concentrações anormais a presença de alumínio, boro, bromo e tungsténio e teores de sílica relativamente elevados, em geral entre 10 e 15% da mineralização total. O ião bicarbonato é, em geral, o dominante no grupo dos aniões ( $> 50\%$  do total de meq/l do grupo). Em menos casos é o ião cloreto que domina, sendo que o ião fluoreto é o segundo ou terceiro anião em abundância. No grupo catiónico predomina sempre o ião sódio (mais de 75% dos meq/l do grupo) (Pereira, 1991).

As águas do tipo sulfúreas são essencialmente caracterizadas por na sua constituição química apresentarem teor de enxofre igual ou superior a 1 mg/l em formas pouco estáveis, ( $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{HS}^-$  e  $\text{S}^{2-}$ ) que predominam consoante o pH do meio e apresentam mineralização total baixa. O equilíbrio entre as formas  $\text{H}_2\text{S}/\text{HS}^-$  é dinâmico, reversível e depende, como referido anteriormente, principalmente do pH da solução: se a água é ácida ( $\text{pH} < 7$ ) ocorre a presença predominantemente de  $\text{H}_2\text{S}$ , se o pH está compreendido entre 7 e 9 há equilíbrio entre  $\text{H}_2\text{S}$  e  $\text{HS}^-$  e se o pH é superior a 9, a concentração de  $\text{H}_2\text{S}$  é muito pequena, sendo que para pH 12 existe nas águas apenas  $\text{S}^{2-}$ .

Do ponto de vista químico, as águas presentes no Maciço Hespérico são bicarbonatadas/cloretadas, predominantemente sulfúreas. As termas do Cró localizam-se dentro do Maciço Hespérico emergindo à superfície e, sendo captada a 30 metros de profundidade a 23°C.

Na Figura 1.4 encontra-se descrita a composição físico-química detalhada desta água termal. Salienta-se o elevado grau de sulfuração total e a quantidade de enxofre total bem como a elevada concentração de Cloreto ( $\text{Cl}^-$ ), Flureto ( $\text{F}^-$ ) e Sulfato ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) (Calado, 1995).

**PARÂMETROS GLOBAIS**

Temperatura ambiente (°C)	n.d.
Temperatura da água (°C)	n.d.
pH à temperatura de 20,9°C	8,21
Condutividade (µS/cm) à temp. de 21,2°C	426
Alcalinidade (mL/L de HCl 0,1M)	27,7
Dureza Total (p.p.10 <sup>5</sup> CaCO <sub>3</sub> )	1,2
Silica (mg/L de SiO <sub>2</sub> )	48,0
Silício Total (mg/L de SiO <sub>2</sub> )	--
CO <sub>2</sub> Livre (mg/L de CO <sub>2</sub> )	--
CO <sub>2</sub> Total (mmol/L de CO <sub>2</sub> )	2,64
Sulfuração Total (mL/L I <sub>2</sub> 0,01N)	16,3
Enxofre Total (mmol/L)	n.d.
Resíduo Seco a 180°C (mg/L)	301
Resíduo Seco a 260°C (mg/L)	n.d.

**COMPONENTE MAIORITÁRIA**

<b>ANIÕES</b>	mg/L	meq/L
Fluoreto (F <sup>-</sup> )	16,0	0,84
Cloreto (Cl <sup>-</sup> )	33,3	0,94
Hidrogenocarbonato (HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	157	2,57
Carbonato (CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> )	--	-
Hidrogenosulfureto (HS <sup>-</sup> )	2,6	0,08
Sulfato (SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> )	15,3	0,32
Silicato (H <sub>3</sub> SiO <sub>4</sub> <sup>-</sup> )	--	-
Fosfato (H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> )	n.d.	-
Nitrato (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	0,13	-
Nitrito (NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )	<0,01	-
Cianeto (CN <sup>-</sup> ) (µg/L)	n.d.	-
<b>Total</b>	<b>224</b>	<b>4,75</b>
<b>CATIÕES</b>	mg/L	meq/L
Lítio (Li <sup>+</sup> )	0,69	0,10
Sódio (Na <sup>+</sup> )	100	4,33
Potássio (K <sup>+</sup> )	2,5	0,06
Magnésio (Mg <sup>2+</sup> )	0,21	0,02
Cálcio (Ca <sup>2+</sup> )	4,1	0,21
Ferro (Fe <sup>2+</sup> )	--	-
Amônio (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> )	<0,08	-
Manganês (Mn <sup>2+</sup> )	na vestigiária	-
Estrôncio (Sr <sup>2+</sup> )	na vestigiária	-
<b>Total</b>	<b>107</b>	<b>4,72</b>

**EXAME ORGANOLÉPTICO**

Cheiro	a sulfídrico
Cor	nula
Aparência	límpida
Depósito	nulo

**RESUMO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA (mg/L)**

Aniões	224
Catiões	107
Silica	48,0
<b>Mineralização Total</b>	<b>379</b>

**COMPONENTE VESTIGIÁRIA**

<b>ELEMENTO</b>	µg/L
Lítio (Li)	na maioritária
Berílio (Be)	0,60
Boro (B)	n.d.
Alumínio (Al)	6,4
Vanádio (V)	<0,49
Crômio (Cr)	<2,1
Manganês (Mn)	21,1
Cobalto (Co)	<0,36
Níquel (Ni)	<17,2
Cobre (Cu)	<1,1
Zinco (Zn)	<6,2
Arsênio (As)	14,5
Selênio (Se)	<2,9
Rubídio (Rb)	69,4
Estrôncio (Sr)	59,9
Ytório (Y)	<0,04
Zircônio (Zr)	<0,56
Nióbio (Nb)	<0,09
Molibdênio (Mo)	1,1
Prata (Ag)	0,53
Cádmio (Cd)	0,22
Estanho (Sn)	<0,47
Antimônio (Sb)	<0,14
Telúrio (Te)	<0,28
Césio (Cs)	106
Bário (Ba)	<1,3
Tântalo (Ta)	<0,14
Tungstênio (W)	76,9
Mercurio (Hg)	0,52
Tálio (Tl)	<0,21
Chumbo (Pb)	<0,65
Bismuto (Bi)	<0,12
Urânio (U)	<0,19

**Figura1. 4-** Boletim de análises Químicas da água das Caldas do Cró Colheita de 5 de julho de 2011 (Câmara Municipal do Sabugal, 2011)

#### 1.1.4.3.2 Indicações terapêuticas e contraindicações

As águas minerais naturais são conhecidas pelas diversas qualidades terapêuticas, principalmente na prevenção, reabilitação e tratamento de várias patologias (Weisz, 2001).

Com efeito, os mecanismos de ação das águas minero-medicinais passam por um lado por ações terapêuticas específicas, consequência direta da sua mineralização e vias de administração, e por outro lado por uma ação dita inespecífica, relacionada com a

capacidade de reação a estímulos, o seu efeito placebo e a possibilidade de eventuais reações adversas (Pereira, 1991, Bender, *et al.*, 2005).

Os efeitos da terapia termal podem ser divididos em três categorias: mecânicos, termais e químicos, atuando através de estímulos térmicos, mecânicos, por reação e por reflexo, que em dosagem calculada e precisa podem ser benéficos para a saúde (Bender, *et al.*, 2005, Nasermoaddeli e Kagaminor, 2005, Baleiras, 2008, Roques e Queneau, 2009).

O estímulo térmico provoca efeitos vasodilatadores, analgésicos, sedantes e relaxantes, acionando todo um conjunto de mecanismos termoreguladores. Quanto maior for a diferença de temperatura entre a água e o corpo, mais forte é a sua ação. (Via, 2000, Nasermoaddeli e Kagaminor, 2005, Eyzaguirre, 2008).

O estímulo por reação trata-se de uma consequência direta do aumento da temperatura corporal. Dos órgãos internos para a periferia passa uma maior quantidade de sangue, aumentando o fluxo de fluido circulante, o que atua favoravelmente ao nível de órgãos como o fígado, o coração, os pulmões e o sistema parassimpático (Via, 2000, Nasermoaddeli e Kagaminor, 2005, Eyzaguirre, 2008).

O estímulo mecânico é produzido pela ação da água ao longo do corpo no seu todo ou em parte, originando uma alternância de tensão e relaxamento tônico. Este efeito surge em consequência do princípio de Arquimedes (a diminuição do peso provoca maior liberdade de movimentos), da pressão hidrostática (melhorando a circulação) e de fatores menores como a tensão superficial, a viscosidade e a densidade (Via, 2000, Nasermoaddeli e Kagaminor, 2005, Eyzaguirre, 2008).

Alguns estudos defendem que os tratamentos termais têm efeitos a curto/médio prazo, são úteis na prevenção e profilaxia das patologias e ainda reduzem o número de internamentos associados a cada patologia. Desta forma, poder-se-á dizer que as águas termais são dotadas de efeitos terapêuticos. Esta terapêutica não apresenta, em geral, riscos associados, requer apenas um período suficiente de tempo, e é um método facilmente aplicável (Pereira, 1991, Coccheri, *et al.*, 2007).

As águas minero-medicinais, no entanto, como qualquer agente terapêutico, podem provocar respostas anormais e excessivas, o que conduz a uma fase de agravamento da

doença ou dos sintomas, por um período de tempo limitado, que tanto pode afetar o estado geral do doente como a própria doença – “crise termal” (ATP, 2011). Geralmente a crise termal inicia-se ao fim de cinco a seis dias de tratamento e desaparece gradualmente durante a segunda semana, podendo, no entanto, ser tão violenta que obrigue à interrupção total do tratamento.

A crenoterapia apresenta também algumas contraindicações, destacando-se como mais importantes, os processos infecciosos ou inflamatórios agudos, doenças descompensadas de origem cardiovascular, tuberculose evolutiva ou processos tumorais malignos (Pereira, 1991, Petraccia, *et al.*, 2006, Eyzaguirre, 2008).

Em suma, o conhecimento das características da água a prescrever é tão importante como o conhecimento científico do princípio ativo, farmacodinâmica e da farmacocinética de qualquer medicamento. Geralmente, as contra indicações específicas de cada água devem-se ao erro na escolha da água a utilizar para determinada patologia, bem como nas técnicas termais aplicadas (Grande, 2008).

### **1.1.5 Eficácia da Crenoterapia em patologias do trato respiratório superior**

As doenças das vias respiratórias constituem um dos principais motivos de procura de tratamentos termais. São principalmente as águas sulfúreas (como, por exemplo as das Termas do Cró) as que melhores resultados evidenciam neste grupo de patologias (Gomes, 2010).

Vários têm sido os estudos sugeridos sobre a eficácia do tratamento termal, nomeadamente no que se refere à eficácia terapêutica das águas sulfúreas na inflamação do trato respiratório superior. A existência de estudos que promovem a terapia de águas sulfúreas como o primeiro tratamento alternativo a fármacos em doenças inflamatórias crónicas refractárias indica a terapêutica termal como um tratamento eficaz, com resultados reprodutíveis, clinicamente significativos e sem efeitos secundários (Salami, *et al.*, 2008).

As águas sulfúreas demonstram, para além dos efeitos terapêuticos na inflamação, potencial antimicrobiano, efeito antioxidante e efeito trófico na mucosa nasal (Mora, *et al.*, 2003, Bender, *et al.*, 2007).

A modelação do sistema imune por água sulfúrea tem sido realçada em vários estudos. Foi demonstrado em estudos “*in vitro*” que a água termal sulfúrea pode inibir a proliferação de linfócitos T normais obtidos nos doentes com doenças imunes crónicas. Foi também relatado que as águas termais sulfúreas podem inibir a libertação da interleucina 2 (IL-2) e de interferão gama (INF- $\gamma$ ) das células T *helper* (Th1), sugerindo que a inalação do vapor da água sulfúrea consegue modelar alguns aspetos fisiopatológicos das células linfocíticas T e de memória. Sabe-se que o INF- $\gamma$  e a IL-2 são as primeiras citocinas ativadas a induzir a cascata de outros mediadores inflamatórios (Salami, *et al.*, 2008).

Após a inalação de água termal verifica-se igualmente um aumento dos níveis plasmáticos de imunoglobulinas da classe A (IgA) e uma diminuição dos níveis de imunoglobulina da Classe E (IgE), bem como o aumento do número de eosinófilos à superfície nasal- Estes achados demonstram também a atividade imunomoduladora e contribuem para as evidências do uso da água termal enquanto medicamento (Staffeiri e Abramo, 2007, Staffeiri, *et al.*, 2008.).

Saffieri e Abramo (2007) demonstraram, com base em evidências estatisticamente significativas, que ao fim de 14 dias de inalações com água termal sulfúrea- arsénica-ferroarginosa se verificam efeitos terapêuticos na inflamação das vias áreas superiores. A água termal promove um transporte mucociliar normalizado, a redução da resistência nasal e a melhoria da função mucociliar

O transporte mucociliar é a principal defesa das vias aéreas superiores e inferiores contra agentes potencialmente patogénicos e toxinas, por meio da ação conjunta das células ciliadas e mucosecretoras presentes no epitélio que promovem a limpeza adequada das vias aéreas. De facto, pela medição do tempo médio de transporte mucociliar, estudos recentes indicam que a melhoria desta função promove uma diminuição bacteriana na mucosa nasal de indivíduos com doença sinusal crónica (Staffeiri, *et al.*, 2008.).

Salami e seus colaboradores (2010) detetaram alterações na presença de microrganismos e na forma como se organizam (biofilme) aquando o uso de água termal. A patogenicidade do biofilme é ampliada por duas características: por resistência ou tolerância aos antimicrobianos, e pela incapacidade do hospedeiro reagir contra a bactéria. A água termal atua bloqueando a síntese de adesinas, o que promove a limitação do biofilme (Salami, *et al.*, 2010).

Outros estudos demonstraram que após um mês de tratamento, as irrigações nasais com água termal quando comparadas com irrigações nasais hipertónicas evidenciaram melhoria clínica das características endoscópicas e microbiológicas da mucosa nasal em doentes com rinosinusite crónica. No entanto, não se obtiveram resultados reprodutíveis nos parâmetros citológicos (Ottaviano, *et al.*, 2010).

A irrigação nasal é recomendada para tratamento de condições nasais, no entanto, existe alguma controvérsia quanto ao uso de soluções de irrigação nasal com diferentes concentrações e com uso de aditivos. Rabago e os seus colaboradores defenderam que irrigações nasais hipertónicas melhoram a qualidade de vida e promovem a melhoria geral dos sintomas de indivíduos com rinosinusite (Rabago, *et al.*, 2002).

De assinalar que a ação anti-inflamatória e antioxidante associa-se particularmente à ação farmacodinâmica do enxofre e seus derivados oxidados como sulfitos e sulfatos. Estudos recentes demonstraram que a água termal induziu a produção de enzimas favoráveis à diminuição de espécies reativas de oxigénio (ROS) ao fim da primeira sessão de tratamento. No entanto, a composição química da água é que determinou a ação enzimática e consequentemente o efeito antioxidante propriamente dito (Bender, *et al.*, 2007).

Em suma, podem distinguir-se os seguintes efeitos hidroterápicos das águas sulfúreas ao nível do trato respiratório superior: diminuição do teor bacteriano; normalização do transporte mucociliar; aumento do metabolismo lipoproteico; ação mucolítica (a água termal do tipo sulfúrea atua sobre as mucoproteínas e quebra as pontes dissulfureto diminuindo a viscosidade do muco); diminuição de moléculas inflamatórias como a IL-2 e o INF- $\gamma$ ; diminuição do número de eosinófilos locais; aumento dos níveis plasmáticos de IgA; ação trófica e cicatrizante (através da cedência de HS<sup>-</sup> para a formação de ácido

mucoitinossulfúrico); diminuição dos níveis plasmáticos de IgE e consequentemente melhoria na severidade deste grupo de patologias (Staffeiri e Abramo, 2007).

Mora et al (2003) concluíram que a terapia termal traduz resultados clinicamente evidentes um mês a um ano após tratamento, produzindo melhorias sustentadas nos sintomas e nos exames clínicos.

## **1.2 Sistema Respiratório**

O Sistema respiratório é um dos sistemas mais importantes e vitais do organismo e, desempenha importantes funções, tais como, as trocas gasosas, controlo do pH sanguíneo, fonação e olfato. Divide-se em duas partes, o trato respiratório superior e inferior (Seeley, *et al.*, 2005, Chamberlain, 2009). A nível anatómico constitui uma barreira natural contra os microrganismos potencialmente patogénicos e ajuda na prevenção da infeção através da presença de células mucociliares que cobrem a superfície interna nasal, pilosidades nasais, células fagocíticas e ainda pela presença de uma flora microbiana normal que estabelece com o hospedeiro uma relação de simbiose (Mahon, *et al.*, 2007). No conhecimento sobre infeções do trato respiratório superior discute-se o papel da flora microbiana na prevenção da infeção, no entanto, sabe-se que previne a proliferação e a invasão dos microrganismos patogénicos através da competição pelos mesmos nutrientes e pelos mesmos locais de ligação ao hospedeiro (Tortora, *et al.*, 2002). O seu conhecimento é importante para determinar a relevância clínica quando os microrganismos surgem isolados (Fonseca e Sebastião, 2004. , Mahon, *et al.*, 2007).

As patologias do trato respiratório são todas aquelas que afetam o trato e os órgãos do sistema respiratório. Atualmente a Direção Geral da Saúde distingue catorze tipos de patologias que vão desde as doenças nasais, das quais se destaca a rinite, sinusite e rinosinusite, até às neoplasias pulmonares (Saude, 2010).

### **1.2.1 Patologias do Trato respiratório Superior:**

As doenças respiratórias crónicas, tais como a Rinite alérgica, a rinossinusite e a sinusite crónica, fazem mais de quatro milhões de vítimas por ano e afetam centenas de milhões de pessoas. Estas doenças prejudicam a saúde e o bem-estar dos doentes e têm um impacto negativo na família e na sociedade. A Organização Mundial de Saúde (OMS) lançou recentemente a “*Global Alliance against Chronic Respiratory Diseases*” (Aliança Global contra as Doenças Respiratórias Crónicas – GARD). Dirigida pela OMS, a GARD tem por objetivo reunir os conhecimentos de organizações nacionais e internacionais, instituições e agências e visa melhorar a qualidade de vida de milhões de pessoas afetadas pelas doenças respiratórias crónicas. Vigilância global, prevenção e controlo das doenças respiratórias crónicas trata-se de uma abordagem integradora que chama a atenção para o grande impacto das doenças respiratórias crónicas em todo o mundo, para além de destacar os fatores de risco e as formas de prevenir e tratar estas doenças (OMS e DGS, 2008).

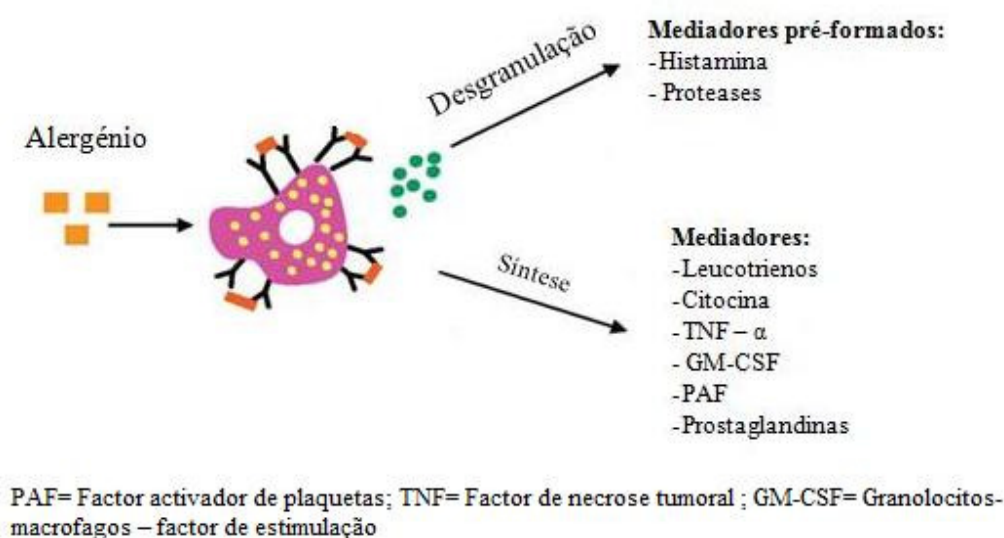
#### **1.2.1.1 Rinite Alérgica**

A rinite alérgica é um problema na saúde global dos países industrializados, afetando entre 10 a 20% da população e a sua prevalência tem vindo a aumentar a um ritmo acelerado. É a doença crónica mais frequente na Europa e espera-se que em 2015 uma em cada duas pessoas sofra desta patologia clinicamente definida como um processo inflamatório nasal, sintomático e crónico, determinado pela produção de Imunoglobulinas da classe E (IgE) após a exposição a alérgenos (Cauwenberge, *et al.*, 2001, Braback, *et al.*, 2005) (Figura 1.5). Caracteriza-se por uma sintomatologia variada: rinorreia, congestão e comichão nasal, espirros, alteração do olfato e do paladar resultante das alterações teciduais nas vias respiratórias superiores em respostas às interações das IgE(s) específicas (Almeida e Cabeda, 2007, Pfaar, *et al.*, 2009, Westwrgren, *et al.*, 2009). A sintomatologia ocorre numa relação temporal com a exposição ao alérgeno. Apesar de ser comumente sazonal, devido à sua deflagração por pólen transportados pelo ar, a rinite alérgica pode ser perene num ambiente de exposição crónica (Harrison, *et al.*, 2002).

Em geral, a rinite alérgica acomete indivíduos atópicos, isto é, pessoas com história familiar de um complexo sintomático semelhante ou relacionado e com uma história



pessoal de alergia. O desenvolvimento de rinite alérgica requer a presença de dois elementos: a exposição contínua ao alérgeno e a reação do sistema imunitário (Cauwenberge, *et al.*, 2001, Arion e Wang, 2005). Assim, verifica-se uma resposta imunológica dirigida contra os alérgenos que não constituem “*per si*” qualquer perigo para o organismo (Kuby, *et al.*, 2003). A resposta imunológica mobiliza um conjunto de células e moléculas efectoras com o objetivo de remover o agente estranho ao organismo. As glândulas mucosas, células epiteliais, células dendríticas, linfócitos T e B, eosinófilos, neutrófilos induzem uma resposta inflamatória generalizada que se caracteriza por vasodilatação local, o que conduz a uma maior permeabilidade das mucosas, alterações estruturais e funcionais responsáveis por sintomas prolongados que se traduz num aumento da severidade da doença (Mullol, 2005, Randón, *et al.*, 2010). Assim, o alérgeno ao ligar-se à IgE de superfície dá origem ao processo que leva à libertação de mediadores inflamatórios como histaminas, prostaglandinas, leucotrienos (CysLTs), fatores de ativação de plaquetas e citocinas (Pawankar, *et al.*, 2007). O processo inflamatório começa com a desgranulação dos mastócitos. A histamina, responsável pela maior parte da sintomatologia, é o principal mediador da fase inicial, seguindo-se um aumento de leucócitos, nomeadamente eosinófilos na mucosa nasal. De entre os vários mediadores de inflamação, a histamina é sem dúvida o mais estudado, no entanto, atualmente a investigação incide sobretudo em compreender a função dos leucotrienos no processo inflamatório. Estas moléculas são responsáveis pela obstrução das vias aéreas, aumento da permeabilidade vascular e aumento de eosinófilos o que, por sua vez, conduz a um crescimento exponencial de mediadores da inflamação e consequentemente a um agravamento e persistência dos sintomas (Ciprandi, 2010). As células T são células muito importantes no processo inflamatório associado à alergia na medida em que são responsáveis pelo fenótipo alérgico.



**Figura1. 5** Reação do sistema imunitário à exposição ao alergénio – mediadores. (Adaptado de: Quraishi *et al.*, 2004 )

De facto, indivíduos com alergia registam um desequilíbrio entre os subconjuntos de linfócitos T CD4+, ou seja, Th1 e Th2, em detrimento do fenótipo Th2 (Randón, *et al.*, 2010). Na verdade, as células Th1 são responsáveis pela defesa do hospedeiro contra vírus e bactérias, enquanto as células Th2 produzem citocinas e interleucinas (IL-3;IL-4;IL-5;IL-13) que estão envolvidas na síntese de IgE e na ativação de eosinófilos e fibroblastos. Estudos recentes “in vitro” demonstram que a IL-25 e a IL-33 desempenham também um papel importante, quer na regulação das células Th2 na superfície das mucosas, quer na regulação dos recetores de histamina na mediação da sintomatologia (Broide, 2010, Randón, *et al.*, 2010).

O aumento dramático da prevalência de rinite alérgica pode ser explicado, por um lado, por causas genéticas, ainda não completamente definidas e, por outro lado, por fatores ambientais endógenos, exógenos e sociais. Os fatores exógenos melhor conhecidos e considerados mais importantes no aumento desta prevalência incluem, os próprios alergénios, a poluição atmosférica, hábitos tabágicos e o estilo de vida (sedentarismo) (Almeida, *et al.*, 1993, Cauwenberge, *et al.*, 2001, Braback, *et al.*, 2005). Assim, a duração da exposição ao alergénio, mais do que o tipo de alergénio, é fundamental para a inflamação alérgica. Por esta razão, uma nova nomenclatura para a rinite alérgica foi recentemente proposta e validada. Os termos tradicionais “sazonal” e “perene” foram substituídos pelos termos “intermitente” e “persistente”, respetivamente. Com base na

severidade da sintomatologia, a rinite alérgica passou a ser também classificada em leve, moderada ou grave (Broide, 2010). Neste sentido, o tratamento da rinite alérgica passa não só por diminuir a exposição a fatores ambientais, mas também por tratamento farmacológico (anti-histaminicos, alergeneos recombinantes,etc) e, em muitos casos, pelo tratamento termal (Baleiras, 2008, Eyzaguirre, 2008, Mucci, *et al.*, 2011). De notar que alguns autores defendem não existir incompatibilidade entre o tratamento farmacológico e o termal. Há sim, por vezes, a necessidade de ajustar a posologia dos fármacos (Pereira, 1991).

#### **1.2.1.2. Sinusite**

Atualmente, aproximadamente 0,5% das infeções respiratórias do trato respiratório superior são complicadas pela sinusite. Estima-se que ocorram entre 15 a 40 episódios de sinusite por cada 1000 pacientes (Worrall, 2011).

A sinusite é a inflamação da mucosa de um ou mais seios perinasais, geralmente associada a um processo infeccioso por vírus, bactérias ou fungos mas que também pode estar associado a patologias alérgicas. De facto, é rara a ocorrência de sinusite sem rinite (Meltzer, *et al.*, 2005).

Os seios perinasais são formados por um grupo de cavidades aeradas que se abrem dentro do nariz e se desenvolvem nos ossos da face. São diferenciados conforme a sua localização em seios maxilares, etimóides, frontais e esfenoides esquerdo e direito. A sua função passa essencialmente por eliminar microrganismos do trato respiratório superior através de movimentos mucociliares e a sua obstrução conduz à patologia propriamente dita(Harrison, *et al.*, 2002).

A sinusite pode ser aguda ou crónica: a sinusite aguda pode ser de difícil diagnóstico, já que os sintomas são eventualmente semelhantes a uma infeção viral ou a uma típica constipação, a duração dos sintomas varia entre 7 e 10 dias; a sinusite crónica caracteriza-se por sintomas de inflamação sinusal que duram 3 ou mais meses. Muitos especialistas acreditam que é um distúrbio causado por uma disfunção mucociliar, geralmente consequência de infeções repetidas, em vez da persistência da infeção bacteriana (Harrison, *et al.*, 2002).

A bacteriologia da sinusite crônica não está bem definida contudo, os indivíduos podem estar colonizados por *Staphylococcus aureus* ou *Pseudomonas* e outros bacilos gram-negativos. De notar que a necessidade de antibioterapia deve ser avaliada em cada caso, com antibióticos escolhidos segundo o resultado de culturas recentes. É também recomendado em casos de patologia alérgica associada o uso de corticoides, anti-histamínicos e descongestionantes nasais (Harrison, *et al.*, 2002, Larson e Han, 2011).

O primeiro passo de forma a prevenir a sinusite é garantir uma boa função nasal mantendo os seios perinasais bem ventilados. O uso de soluções salinas é prescrito por muitos clínicos como forma de prevenção da ocorrência de sinusite sobretudo em indivíduos alérgicos, evitando assim a evolução para rinossinusite (Friedman, *et al.*, 2006).

### **1.2.1.3 Rinossinusite**

O termo rinossinusite é mais utilizado atualmente já que a rinite e a sinusite são, frequentemente, uma doença em continuidade. A rinite existe isoladamente, mas a sinusite sem a rinite é de ocorrência rara (Gomes, 2010, Kariyawasam e Scadding, 2011)..

A Academia Europeia de Alergologia e Imunologia clínica (*European Academy of Allergology and Clinical Immunology*) define clinicamente rinossinusite como inflamação do nariz e seios perinasais com duração inferior a 12 meses (Scadding, *et al.*, 2007). Caracteriza-se essencialmente por obstrução nasal, rinorreia (anterior / posterior), dor e redução ou perda do olfato. O diagnóstico passa por evidências imagiológicas. Alguns autores consideram não se tratar de uma doença distinta, mas um termo que reúne um espectro de desordens com diferentes mecanismos imunopatológicos. Entre esses fatores incluem-se a exposição a alérgenos que medeiam a produção de IgE, a interação entre o indivíduo e microrganismos potencialmente patogénicos presentes na mucosa nasal e por último, eventuais alterações estruturais da mucosa ou dos seios perinasais (por exemplo o desvio do septo nasal) (Gomes, 2010, Kariyawasam e Scadding, 2011).

Neste sentido, a patogénese exata da rinossinusite permanece mal definida e as opções de tratamento são limitadas e muitas vezes ineficazes. Nas opções de tratamento inclui-se o uso de esteroides, antibióticos (macrólidos), soluções salinas de lavagem e ainda o tratamento termal (Gomes, 2010, Kariyawasam e Scadding, 2011).

Atualmente a rinossinusite crónica representa 60% dos casos de rinossinusite e é subclassificada em dois subtipos distintos tendo em conta a presença ou não de pólipos nasais: rinossinusite crónica com pólipos nasais, rinossinusite crónica sem pólipos nasais (Kariyawasam e Scadding, 2011). A rinossinusite Crónica sem pólipos nasais associa-se a um processo inflamatório em que se verifica dominância das células Th2 o que, como referido para a rinite alérgica, induz a produção de moléculas infamatórias como citocinas e interleucinas (IL-1, IL-3, IL-6 e IL-8) que estão envolvidas na síntese de IgE e na ativação de eosinófilos (Crombruggen, *et al.*, 2011, Kurimoto, *et al.*, 2011, Nakayama, *et al.*, 2011). De notar que, o mecanismo de desregulação imune que sustenta a inflamação é desconhecido. Kariyawaswam and Scadding sugeriram que ocorrendo uma diminuição do ciclo lesão-reparação da mucosa como resultado da ação inflamatória se verifica uma alteração estrutural o que conduz a um agravamento da sintomatologia – produção excessiva de muco, edema tecidular, obstrução ostial e alteração da função mucociliar (Kariyawasam e Scadding, 2011). O mecanismo inflamatório pode também ser induzido por infeção bacteriana. Em indivíduos com rinossinusite os microrganismos formadores de um biofilme incluem *Haemophilus*, *Staphylococcus* e *Pseudomonas*. Biofilme são comunidades biológicas com um elevado grau de organização, onde as bactérias formam comunidades estruturadas, coordenadas e funcionais e se caracterizam pela adesão à superfície da mucosa. Atualmente existem evidências crescentes de que os biofilmes podem contribuir para a patogénese e persistência da doença (Hamilos, 2011).

A rinossinusite crónica é assim considerada uma patologia que se inclui no grupo das doenças inflamatórias das cavidades nasais e dos seios perinasais. O amplo espectro de alterações que envolve parâmetros histológicos, imunológicos, alergológicos e a sua patogénese permite incluí-la no grupo de patologias do trato respiratório superior(Hamilos, 2011).

### **1.2.2 A flora microbiana no trato respiratório superior**

Sempre que se respira, inala-se grande variedade de microrganismos, portanto, o trato respiratório superior é um grande portal de entrada para microrganismos potencialmente

patogénicos. Na verdade as infeções do sistema respiratório são o tipo de infeção mais comum e entre as mais prejudiciais (Lim, 1998, Forbes, *et al.*, 2002)

O sistema respiratório é composto por duas partes: o trato respiratório superior e o trato respiratório inferior. O trato respiratório superior, também designado por vias aéreas superiores, é constituído pela cavidade nasal, pela faringe e pelas estruturas associadas; as vias respiratórias inferiores incluem a laringe, a traqueia, os brônquios e os pulmões(Seeley, *et al.*, 2005).

O trato respiratório superior pode estar envolvido, como referido anteriormente, em infeções respiratórias vastas e generalizadas, rinite, sinusite, faringite, etc. Na maior parte dos casos, estas infeções são divididas em infeções primárias, provocadas por vírus (segundo a Sociedade Americana de Microbiologia estima que corresponda a 90% das infeções) embora, em geral, este não seja detetado e conseqüentemente surge, muitas vezes a infeção secundária, causada por microrganismos potencialmente patogénicos e habitualmente presentes na nasofaringe (Carroll e Reimer, 1996)

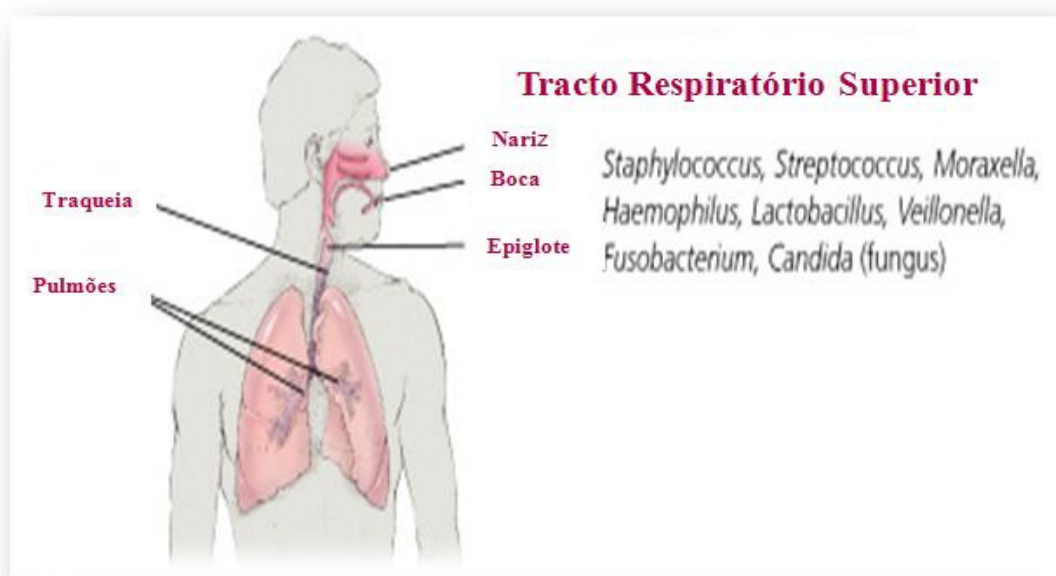
De notar que, geralmente a conceção de doenças do trato respiratório superior tem em conta, por um lado a flora microbiana normal, importante na prevenção da infeção e por outro, o estado imune do indivíduo que determina se o microrganismo causa ou não doença (Mahon, *et al.*, 2007).

Do ponto de vista microbiológico, define-se por flora normal o conjunto de microrganismos que geralmente se encontra em determinados locais do organismo de indivíduos saudáveis. Diferentes locais do organismo podem ter a mesma ou distinta flora dependendo das condições do meio envolvente. Estes microrganismos estabelecem geralmente com o hospedeiro uma relação de simbiose tendo um papel importante na prevenção, proliferação e invasão de microrganismos patogénicos, através da competição pelos mesmos nutrientes e pelos mesmos locais de adesão. Adicionalmente, estes microrganismos produzem produtos bacterianos tóxicos a outros microrganismos, o que de certa forma mantém condicionada a rapidez da resposta imune(Lim, 1998, Mahon, *et al.*, 2007).

Embora a comunidade científica tenha definido uma lista padronizada de microrganismos que podem ser encontrados no trato respiratório superior é interessante perceber que este consenso sobre o que é considerado “flora normal” pode alterar com o tempo e com novas associações entre microrganismos e estado de doença a reconhecer. Por exemplo, inicialmente *Moraxella catarrhalis* era considerada parte da flora do trato respiratório superior e raramente associada a sintomas de infecção. Contudo, desde o início de 1970, existe um consenso alargado de que este microrganismo pode estar associado a complicações respiratórias em adultos e crianças com doença pulmonar crónica (Mahon, *et al.*, 2007). Neste sentido, atualmente impõem-se a questão qual a flora normal e qual a potencialmente patogénica?

O conhecimento da flora é importante para determinar a sua relevância clínica quando os microrganismos são isolados. No entanto, são vários os fatores que influenciam a presença ou a ausência desses microrganismos. Por um lado, a relação entre o hospedeiro e o microrganismo depende de fatores como o estado imune do indivíduo, a idade, as condições ambientais a que o indivíduo está sujeito, as condições nutricionais e o recurso ou não à antibioterapia. Por outro lado, depende de fatores microbiológicos inerentes à invasão do microrganismo e que vão determinar o aparecimento ou não de doença.

A flora microbiana normal do trato respiratório superior é uma flora mista abundante, caracterizando-se pela presença de microrganismos como *Staphylococcus aureus*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Haemophilus influenzae* e alguns *Bacillus* Gram negativos (Figura 1.8) (Konno, *et al.*, 2007).



**Figura1. 6** - Flora microbiana do Trato Respiratório Superior (Adaptado de Murray *et al.* 2009)

### 1.2.2.1. *Staphylococcus*

O género *Staphylococcus* pertence à família dos *Micrococcaceae*. O nome tem origem grega e significa cocos em cacho, morfologia característica destes microrganismos, sobretudo quando cultivados à superfície de meio sólido. Os *Staphylococcus* são bactérias que vivem em contacto íntimo com o Homem, numa relação habitual de comensalismo ou mutualismo. Define-se pelas seguintes características: cocos Gram-positivos; anaeróbios facultativos; produzem ácidos por degradação da glicose, quer em aerobiose quer em anaerobiose; são catalase positivos e muitas espécies constituem uma parte importante da flora microbiana normal da pele e das mucosas. O género inclui também alguns microrganismos patogénicos, nomeadamente a espécie *Staphylococcus aureus*. As infeções causadas por *Staphylococcus* são muito variadas nas manifestações clínicas e na sua gravidade. O contexto epidemiológico em que surgem apresenta condicionalismos particulares e o controlo das infeções são desafios importantes (Ferreira e Sousa, 2000, Murray, *et al.*, 2002, Lemaire, *et al.*, 2008.)

Os vários tipos de infeções causadas por *S. aureus* devem-se a um conjunto de fatores de virulência desenvolvidos por este microrganismo, nos quais se incluem toxinas, enzimas e a própria estrutura da bactéria. Os fatores de virulência têm um papel relevante na adesão, evasão do sistema imune, persistência da infeção, produção de enzimas e de fatores que regulam a expressão proteica (Sattler e Armando, 2004.)

As proteínas de superfície, designadas por microbial *Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules* (MSCRAMMs) parecem ter um papel fundamental na adesão ligando-se a moléculas como o colagénio, fibronectina e fibrinogénio, sendo determinantes na manifestação de várias patologias. A capacidade de escapar ao sistema imune é também uma competência importante desta bactéria, produzindo microcápsulas antifagocíticas, ligando-se à Proteína A e segregando proteínas inibidoras da quimiotaxia dos neutrófilos (Maguire, *et al.*, 1998). A produção de um conjunto de enterotoxinas, com atividade de superantigénio, capazes de modificar as repostas dos linfócitos T e B, dos eosinófilos e de outras células estruturais e inflamatórias permite-lhe também escapar ao sistema imune. Os superantigénios distinguem-se dos antigénios devido à capacidade que apresentam para ativar uma larga população de células T, aproximadamente 30% ao contrário dos



antigénios convencionais que ativam 1% das células T (Wu, *et al.*, 2010) As toxinas incluem nove enterotoxinas estafilocócicas (SE), (SE-A, B, C, D, E, G, H, I e J) e a toxina do síndrome do choque tóxico (TSST-1) (Bacher, 2007.) .Estas enterotoxinas são os exemplos mais relevantes de superantigénios e são altamente patogénicas na medida em que estimulam uma resposta inflamatória exacerbada (Wu, *et al.*, 2010).

No que respeita ao trato respiratório superior, alguns estudos evidenciam que *S. aureus* é encontrado em 30% de indivíduos saudáveis, colonizando as narinas anteriores, portadores (Kanafani e Vance, 2006, Mahon, *et al.*, 2007, Bacher, 2007.).

Em doentes com rinite alérgica persistente, este microrganismo contribui para inflamação e resposta alérgica, influenciando quer os sintomas quer os próprios marcadores imunológicos. Num estudo desenvolvido pela Faculdade de Medicina do Cairo em vinte indivíduos com rinite alérgica persistente detetou-se *S aureus* na mucosa nasal de 80% dos indivíduos, verificando-se uma correlação positiva entre o teor deste microrganismo e a presença de marcadores imunes como a IgE e IL-4. Os resultados são explicados o por *S. aureus* produzir enterotoxinas com atividade superantigénica que, como referido anteriormente, modificam a resposta dos linfócitos T, B e mastócitos, aumentando a secreção de moléculas pró-inflamatórias (IL-4, IL-5 e IgE). O aumento do processo inflamatório predispõe estes indivíduos a um maior risco de colonização por outros microrganismos potencialmente patogénicos. Também foi observado uma correlação entre o teor de *S. aureus* e os espirros como sintoma predominante (Refaat, *et al.*, 2009). Zeldin *et al.* (2008) demonstraram que o tratamento de *S. aureus* na cavidade nasal conduz à diminuição da intensidade dos sintomas, propondo que a presença deste microrganismo nestes indivíduos aumenta a hipersensibilidade a alérgenos e, consequentemente, potencia o processo inflamatório levando ao aumento da intensidade dos sintomas.

Larson e Han (2011) num estudo desenvolvido em indivíduos com diagnóstico de rinossinusite crónica isolaram, além de *S. aureus*, *Staphylococcus* coagulase negativos e ainda alguns Gram negativos, verificando-se no entanto um crescimento polimicrobiano. Admite-se que tal como o *S. aureus*, os *Staphylococcus* coagulase negativos induzem o processo inflamatório da mucosa, não reconhecendo, por um lado, o mecanismo exato responsável por esse processo mas admitindo, por outro lado, a possibilidade da atividade

superantigénica característica do género estar associada á ativação dos mediadores inflamatórios (Larson e Han, 2011).

#### 1.2.2.2. *Streptococcus*

O género *Streptococcus* pertence à família dos *Streptococcaceae*. São microrganismos Gram positivos, esféricos ou ovais, dispostos em cadeias de comprimento variável e com diâmetro individual aproximado de 1,0 µm; são imóveis e não esporulados. Têm como “habitat” principal o trato respiratório superior, sendo principalmente encontrados na garganta, ao contrário de *Staphylococcus* que predominam na parte anterior das fossas nasais (Cruckshank, *et al.*, 1993).

A nomenclatura dos *Streptococcus*, em especial a usada para fins clínicos, é baseada na identificação de serogrupos a partir da composição química da parede celular bacteriana. Estes microrganismos apresentam na parede celular proteínas (M, T e R), peptidoglicano e alguns glúcidos específicos, como o carbohidrato C, com capacidade antigénica, o que permite usar a classificação serológica de Lancefield.

A classificação das espécies de *Streptococcus* faz-se apreciando características diversas: morfológicas, tipo de colónias, a atividade bioquímica, atividade hemolítica em meios com sangue, produção de enzimas, etc. De notar que, a identificação da espécie é por vezes difícil recomendando-se para tal a avaliação de duas características fundamentais: as propriedades hemolíticas e a presença do glúcido específico da parede celular (Lancefield) (Ferreira e Sousa, 2000, Mahon, *et al.*, 2007).

A maior parte das infeções estreptocócicas superiores são provocadas pelos *Streptococcus* patogénicos, hemolíticos, do Grupo A de Lancefield, *Streptococcus pyogenes*. Produz várias exotoxinas, sendo as principais o tipo A, B, C que atuam como superantigénios, com mecanismos similares aos descritos para o género *Staphylococcus* (Neufeld, *et al.*, 2006). A toxina B encontra-se presente em 99% *S. pyogenes* e as toxinas B e C encontram-se intimamente relacionadas com doenças invasivas provocadas por esta bactéria (Imöhl, *et al.*, 2010). Ao contrário de *S. pyogenes*, o *Streptococcus viridans* tem um papel protetor nas mucosas das vias áreas superiores. São microrganismos geralmente  $\alpha$  hemolíticos e fazem parte da flora comensal do trato respiratório superior (Mahon, *et al.*, 2007).

Carroll and Reimer (1996) afirmam, baseando-se numa vasta bibliografia, a existência de uma correlação entre a cultura microbiana de zaragatoa de indivíduos com sinusite crónica e a presença de microrganismos potencialmente patogénicos como *S. pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenza* e *Moraxella catarrhalis*. Existem poucos estudos sobre a quantificação, efeito e ação bacteriana na sinusite crónica.

### 1.2.2.3. *Haemophilus*

Tradicionalmente englobado na família das *Pasteurellaceae*, o género *Haemophilus* engloba uma série de microrganismos que fazem parte da flora normal do trato respiratório superior do Homem. De acordo como “*Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology*” existem 10 espécies de *Haemophilus* associadas a humanos, nas quais se inclui o *H. influenzae* (Mahon, *et al.*, 2007).

O *H. influenzae* é uma bactéria Gram negativa, anaeróbia facultativa, imóvel, não ácido-resistente e não esporulada. Embora normalmente tenha uma morfologia bacilar, apresenta-se por vezes como cocobacilo, mais ou menos pleomórficos. As estirpes de *H. influenzae* possuem geralmente uma cápsula polissacarídica, o que permite a serotipagem desta estirpe com base na especificidade antigénica da cápsula. São reconhecidos 6 serótipos designados de a a f e mais de 95% da totalidade das infeções por *Haemophilus spp*, são provocadas pelo serótipo b de *H influenzae* (Lim, 1998).

Diversos estudos realizados sobretudo em comunidades urbanas revelam que aproximadamente 10 % dos adultos possuem *Haemophilus spp* na sua flora normal da garganta ou nasofaringe. A maioria restante é portadora de estirpes não capsuladas. Neste sentido *H. influenzae* é o microrganismo com maior patogenicidade do género. O *H. influenzae* possui um mecanismo específico para colonizar a nasofaringe e ocasionalmente causar infeção em vários locais do organismo. São essencialmente quatro os seus fatores de virulência: presença de cápsula; segregação de proteases contra as Imunoglobulinas da classe A (IgA); presença de proteínas e polissacarídeos e estruturas de adesão endotelial (Mahon, *et al.*, 2007).

A resposta imune inata é sem dúvida um dos mecanismos mais importantes na proteção das mucosas. Neste sentido, um dos principais mecanismos consiste na segregação de IgA o que conduz à opsonização da bactéria impedindo a adesão endotelial. Uma vez

aglutinados os complexos bacterianos são eliminados juntamente com o muco pelo mecanismo de remoção mucociliar. O *H. Influenzae*, segrega uma protease contra a IgA, o que lhe permite escapar ao sistema imune tornando-se potencialmente patogénico no trato respiratório superior (mecanismos específico para colonizar a nasofaringe) (Vitovski, *et al.*, 2002).

Lysenko *et al.* (2005) mostraram prevalência assintomática em 50 % de indivíduos saudáveis, especialmente crianças, de *H.influenzae* e *S. pneumoniae*. O estudo desenvolvido avaliou o modelo de dupla colonização destes microrganismos e a sua dependência da imunidade inata. Componentes de *H. influenzae*, mas não de *S. pneumoniae*, estimulam o sistema complemento e destroem este último. Assim, o recrutamento e ativação dos neutrófilos por mecanismos bacterianos está na base de importância da resposta imune inata na interação competitiva entre espécies, ditando assim a composição da colonização da flora microbiana (Lysenko, *et al.*, 2005, Larson e Han, 2011).

#### 1.2.2.4. *Neisseria*

O género *Neisseria* pertence à família *Neisseriaceae*, é constituído por diplococos Gram negativos, imóveis, não formadores de esporos, em forma de feijão, aeróbios estritos. Possuem um invólucro, constituído por membrana citoplasmática, parede celular de peptidoglicano e membrana externa com fosfolípidos, proteínas e lipopolissacárido (LOS), o qual é análogo ao lipopolissacarídeo das *Enterobacteriaceae*. Das suas proteínas algumas funcionam como porinas para a entrada e saída de pequenas moléculas e como proteção a algumas das respostas imunitárias do hospedeiro. A *Moraxella catarrhalis*, formalmente conhecida por *Neisseria catarrhalis* e, após 1974 designada de *Branhamella*, é um microrganismo comensal do trato respiratório superior, embora seja potencialmente patogénico e reconhecido como uma das principais causas de sinusite e otite média. (Forbes, *et al.*, 2002, Larson e Han, 2011). As espécies do género *Neisseria*, particularmente os patogénicos humanos, apresentam crescimento fastidioso, sendo geralmente necessários meios de chocolate ou suplementados para o seu crescimento *in vitro* (Forbes, *et al.*, 2002).

Em suma, a flora comensal do trato respiratório superior apresenta duas funções principais, por um lado competir com os microrganismos potencialmente patogénicos e, por outro, sintetizar substâncias bactericidas prevenindo, desta forma, a infeção. Pelo contrário, o trato respiratório inferior, em condições fisiológicas normais, não apresenta qualquer tipo de microrganismo, sendo a sua assepsia mantida pelos macrófagos alveolares (Chamberlain, 2009).

O sucesso do desenvolvimento de um microrganismo depende também da sua habilidade para resistir aos mecanismos de remoção da superfície da mucosa que, por sua vez, são gerados por estimulação polimicrobiana, melhorando assim a ação da imunidade inata. Neste sentido, sendo as infeções do trato respiratório superior consideradas a causa de maior morbilidade e as infeções primárias mais frequentes tratadas em unidades de cuidados de saúde, o laboratório de microbiologia assume um papel preponderante no diagnóstico e identificação de microrganismos potencialmente patogénicos presentes nestes indivíduos. A quantificação destes microrganismos e a sua correlação com os resultados da coloração de Gram são métodos muito importantes para a orientação de estratégias terapêuticas adequadas.

### **1.3 Modos de ação e técnicas de administração no trato respiratório – Técnicas de Otorrinolaringologia (ORL)**

As águas sulfúreas sódicas, pelas suas propriedades, são indicadas para tratamento de patologias respiratórias como a rinite, sinusite, bronquite, asma, laringite, faringite e rinossinusite (Alexandre, 2003, Sabugal, 2006). O seu efeito fundamenta-se sobretudo na reabsorção dos compostos de enxofre através da pele ou sob forma de inalação ou ingestão. A principal ação farmacodinâmica do enxofre parece associar-se à captação de hidrogénio e oxigénio, para formar respetivamente  $\text{HS}^-$  e derivados oxidados como sulfitos e sulfatos, intervindo assim em processos de oxidação e redução (Pereira, 1991).

Neste sentido, às águas sulfúreas sódicas, características do Complexo termal do Cró, é reconhecido além do efeito hidroterapico geral, uma ação específica em patologias do trato respiratório (Pereira, 1991). Entre esses efeitos podem considerar-se, ação mucolítica que

através do fornecimento de enxofre assimilável promove a estimulação dos movimentos ciliares e também o efeito cicatrizante; ação eutrófica e cicatrizante, através da cedência dos radicais  $\text{HS}^-$  para a formação do ácido mucoitinossulfúrico (leva à ativação das células de revestimento); ação antioxidante por diminuição das espécies reativas de oxigénio (ROS); a ação resultante do pH alcalino, radicais sulfídricos e temperatura elevada, os quais favorecem os movimentos ciliares; atividade anti-histamínica; atividade anti-inflamatória (exercida sobre os leucócitos) e ação vasodilatadora que pode facilitar a recuperação da mucosa afetada (Bender, *et al.*, 2007, Roques e Queneau, 2009) .

As técnicas termais de ORL têm como objetivo, por um lado melhorar a mucosa do aparelho respiratório e auditivo e, por outro lado, interferir com as respetivas alterações funcionais existentes. As quatro as técnicas termais mais utilizadas no Complexo Termal Cró para fins de prevenção, terapêutica e reabilitação do trato respiratório são:

**Irrigação nasal** – técnica indicada para o tratamento de rinites. Através de um dispositivo designada oliva nasal, faz-se circular a água termal de uma narina para a outra (contornando o septo nasal) com o auxílio da pressão exercida pela gravidade. À água termal adicionam-se 78,5g de cloreto de sódio por litro de água, de forma a isotonizar a água para que não se verifique o congestionamento da mucosa. A irrigação nasal permite um contacto prolongado das mucosas nasais com as águas termais, melhorando as afeções das vias respiratórias(ATP, 2011).

**Aerossol Sónico** – indicado no tratamento de bronquite crónica e asma. Permite uma penetração muito maior das partículas nas cavidades sinusais e na trompa de Eustáquio visto que a taxa de difusão das partículas é acelerada pela energia transmitida pelos ultrassons intercalados no seu trajeto. O doente deve inspirar lenta e profundamente, respirando pela boca. É uma técnica administrada a 36°C, durante 10 minutos. Durante este tipo de aplicação pode em alguns casos ocorrer bronco espasmo, devido à entrada de partículas que funcionam como corpo estranho, aumento do volume das secreções que incham com a água, podendo ocluir as vias respiratórias e, em casos extremos, infeção respiratória por contaminação do equipamento(ATP, 2011).

**Nebulização Individual** – indicada para o tratamento de todas as patologias do trato respiratório superior. Consiste na inalação pelo nariz e boca, através de uma máscara

individual de gás, de vapores e partículas de água que é previamente fracionada pela projeção violenta contra as paredes do equipamento. Assim, a nebulização consiste em inalar uma atmosfera quente e saturada de água termal e distingue-se do aerossol pela quantidade de partículas inaladas(ATP, 2011).

**Pulverização Faríngea** – Indicado no tratamento de faringites e amigdalites. Destina-se a levar água termal a uma temperatura de 38°C a 40° C durante o contacto da faringe ou das amígdalas, sob controlo visual e pressão regulável. A água é projetada por uma pistola de Castay e o doente deve expor a faringe abrindo a boca o mais possível(ATP, 2011).

Os tratamentos das afeções respiratórias com águas termais visam dois objetivos: no imediato, diminuir os processos inflamatórios e congestivos que acompanham a sinusite congestiva com obstrução nasal e gradualmente interferir com os processos imunológicos que favorecem a diminuição das defesas locais da mucosa respiratória, (Teixeira, 2011).

## 1.4 Objetivos

Portugal detém, juntamente com Itália e a Alemanha, uma riqueza impar em diversidade e qualidade de águas minerais naturais. Neste sentido, numa época em que o termalismo se está a revitalizar, tanto na sua vertente medicinal, como na sua vertente turística, esta investigação visa constituir um contributo ao incremento do estudo da ação terapêutica destas águas.

O conhecimento da ação terapêutica das águas termais tem sido até aos dias de hoje um conhecimento essencialmente empírico confirmado ao longo dos séculos. Nesta medida, testar experimentalmente essa ação terapêutica é algo necessário e, sem dúvida, inovador.

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito terapêutico das águas da Estância Termal do Cró em patologias do trato respiratório superior. Para isso, procedeu-se à caracterização e avaliação das alterações da flora microbiana nasal e da orofaringe em indivíduos com rinite alérgica, rinossinusite e sinusite, antes e após tratamento termal.

## **II- Material e Métodos**

---



## **2.1 Local do Estudo**

Este estudo foi realizado no Complexo termal do Cró, localizado nas freguesias da Rapoula do Coa e do Seixo do Coa, Concelho do Sabugal, Distrito da Guarda, em parceria com o serviço de Patologia Clínica do Hospital Sousa Martins, inserido na Unidade Local de Saúde da Guarda. Trata-se de um laboratório acreditado constituído por 5 áreas de intervenção, nomeadamente pelo serviço de microbiologia, hematologia, imunohematologia, bioquímica e a imunologia.

## **2.2 Caracterização da Amostra**

A população em estudo (população-alvo) consistiu em 50 indivíduos com patologia do trato respiratório superior e a realizar terapêutica termal no Complexo termal do Cró aos quais foram recolhidas amostras nasais e da orofaringe. Foi efetuado um controlo no início da terapêutica termal ( $t=0$ ) e um no final do tratamento.

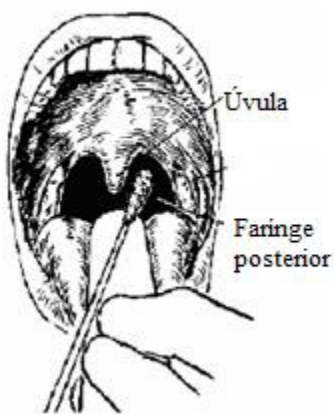
Efetuuou-se uma pesquisa com a finalidade de estudar os hábitos termais em 50 indivíduos com idades compreendidas entre os 31 e os 82 anos. A abordagem foi feita através de inquéritos que permitiram fazer uma estimativa quantitativa e qualitativa dos hábitos termais, incluindo-se informações sobre o tipo, a frequência e a eficácia dos tratamentos termais, os efeitos sentidos após o tratamento termal e ainda o recurso ou não a tratamento farmacológico durante a terapia. O objetivo do instrumento de análise passou assim por obter respostas, descrever, comparar e relacionar, demonstrando, se possível, que certos grupos têm determinadas características

O inquérito foi constituído por três partes, sendo que a primeira parte contemplou três questões sobre dados pessoais, incluindo sexo, idade e condição habilitacional; a segunda parte, catorze questões sobre a condição clínica dos indivíduos e a terceira parte contemplou onze questões sobre hábitos termais. (Anexo 1 – Inquérito adaptado - The European community respiratory health survey (ECRHS) -Main questionnaire; – International Study of Asthma and Allergies in Childhood questionnaire (ISSAC)

### 2.2.1 Critérios de seleção da amostra

Foram incluídas neste estudo amostras biológicas de 50 indivíduos termalistas com idades compreendidas entre os 30 e os 80 anos com diagnóstico de rinite alérgica, rinossinusite ou sinusite e a realizar tratamento termal no Complexo Termal do Cró. Constituíram critérios de exclusão todos os indivíduos que não apresentaram diagnóstico clínico de rinite alérgica, rinossinusite e sinusite.

## 2.3 Colheita da amostra biológica



**Figura 2. 1** - Esquema da colheita de exsudado da região posterior da orofaringe, com zaragatoa. (Fonseca A. e Sebastião C., 2004)

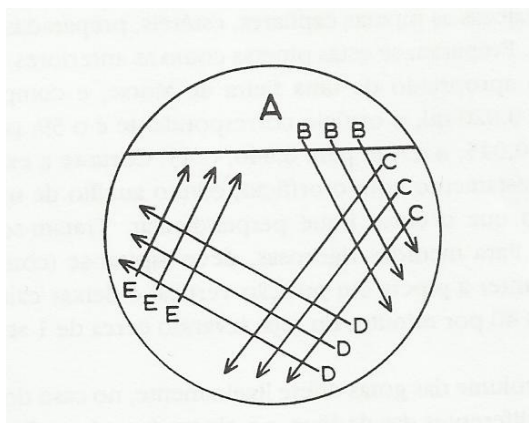
Colheram-se aos indivíduos selecionados duas zaragatoas nasais e da orofaringe antes ( $t=0$ ) e após o tratamento termal para posterior isolamento e identificação microbiana. Neste sentido, recolheu-se uma zaragatoa nasal para a execução do método de coloração de *Gram* e uma zaragatoa nasal para inocular em meio de cultura sendo o mesmo procedimento repetido para a orofaringe; As amostras biológicas foram recolhidas tendo em conta as indicações da Direção Geral de Saúde para a colheita de produtos biológicos para fins de investigação laboratorial (Fonseca e Sebastião, 2004. ).

O **exsudado nasal** foi obtido introduzindo uma zaragatoa na narina paralelamente ao palato e deixando-se nessa posição por alguns segundos de forma a absorver as secreções. Em seguida, introduziu-se um pouco mais fundo na mucosa nasal, 2 a 3 cm no adulto, até o doente lacrimejar. Por último, rodou-se ligeiramente a zaragatoa contra a mucosa nasal. O **exsudado da orofaringe** foi obtido deprimindo a língua com uma espátula esterilizada e de seguida passando vigorosamente a zaragatoa até à parede posterior da faringe evitando a língua e úvula (Fonseca, *et al.*, 2004).

O processamento laboratorial ocorreu 3 horas após a colheita. De modo a assegurar a manutenção da viabilidade de microrganismos até à inoculação da amostra biológica no

meio de cultura foram utilizadas zaragatoas de Dacron (Deltalab<sup>®</sup>). Todas as amostras foram processadas segundo as normas do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) e também segundo as normas padronizadas internamente pelo Serviço de Patologia Clínica do Hospital Sousa Martins, cumprindo-se as disposições legais que regulam a utilização dos produtos biológicos de origem humana (Diário da república – I serie A, nº 18 de 26 de janeiro de 2005).

## 2.4 Processamento da amostra biológica



**Figura 2. 2-** Técnica de sementeira em placa de meio sólido. A zona A representa a “zona de maior inóculo” e a zona B, C e D sucessivas séries de estrias efetuadas com ansa calibrada esterilizada. Fonte: Cruckshank *et al.*, 1993

Após colheita a amostra foi semeada à superfície de um meio sólido, Gelose de Columbia + 5% de Sangue de Carneiro (COS) e Gelose Chocolate *Polyvitex* (PVX) (bioMérieux<sup>®</sup>, França), rolando-se a zaragatoa em aproximadamente  $\frac{1}{4}$  da superfície do meio (inoculo inicial). Semeou-se por técnica de sementeira em placa de meio sólido (Figura 2.2). Concentrou-se o inóculo na zona A, que constitui a “zona de maior inóculo”, com o auxílio de uma ansa calibrada e estéril. A partir desta zona,

traçaram-se com uma ansa duas ou três linhas paralelas sobre a superfície do meio (B). Repetiu-se o processo como evidenciado na figura 2.2.

O meio COS, após sementeira, foi incubado durante 18 a 24h a 37°C em aerobiose e o meio PVX incubou-se durante 18-24h a 37°C em estufa com 5% de CO<sub>2</sub>.

Após, incubação as colónias foram quantificadas, com base em intervalos de contagem (<50; 50-100; 100-500; >500) padronizados internamente pelos procedimentos operativos do Serviço de Microbiologia do Hospital Sousa Martins.

## **2.5 Caracterização fenotípica**

A caracterização fenotípica dos isolados bacterianos, foi efetuada com base nas características morfológicas culturais e no comportamento tintorial dos microrganismos face à coloração de Gram. Efetuou-se também um conjunto de testes bioquímicos tendo em conta a observação da coloração e o seu crescimento no meio de cultura. Foi feita pesquisa de enzimas respiratórias - catalase e oxidase- e de enzimas extracelulares como a coagulase. A identificação foi feita a partir de colónias puras ou axénicas após repicagem em meios de cultura seletivos e diferenciadores.

### **2.5.1 Coloração de Gram**

É uma técnica de execução obrigatória em microbiologia como primeiro passo na identificação das espécies bacterianas e tem como objetivo estudar as propriedades e/ou diferenciar os microrganismo em grupos específicos para fins taxonómicos e de diagnóstico. As diferenças na permeabilidade da membrana aos reagentes químicos, levam às diferenças na coloração. Na técnica de Gram utiliza-se primeiro um corante básico, o violeta de cristal, seguido de um mordente que aumenta a afinidade da célula para o corante, um agente descolorante que remove o corante (álcool a 95%), e finalmente um segundo corante básico, a safranina.

Depois do esfregaço se encontrar devidamente fixo, cobriu-se a lâmina com violeta de cristal (10 a 30 segundos) e passou-se em água corrente. De seguida, adicionou-se o Lugol (20 a 60 segundos) e adicionou-se o reagente descolorante, álcool-acetona (10 a 30 segundos). Entre cada fase da coloração lavou-se o esfregaço com água corrente. Por fim, colocou-se Fucsina (30 a 60 segundos) passou-se por água e deixou-se secar (procedimento descrito no KIT Gram Stain® (Salubris, Inc)).

As lâminas coradas foram analisadas por microscopia ótica de fundo claro em objetiva de imersão (100X) (Leica DM 2000).

### **2.5.2 Análise macroscópica dos microrganismos**

O exame direto, com observação do esfregaço corado pelo método de Gram foi particularmente importante dada a rapidez com que permitiu a avaliação presuntiva do microrganismo. No entanto, se por um lado para a identificação dos microrganismos foi fundamental a observação da sua morfologia e comportamento tintorial face ao método de Gram, por outro lado foi também fundamental a observação das características das colónias. As amostras foram avaliadas segundo as normas regulamentadas pelo Programa Nacional de Controlo de Infecções (PNCI) e enunciadas no documento “*Orientações para a elaboração de um Manual de Boas Práticas em Bacteriologia*” (2004) e ainda segundo o “*Manual de Boas práticas*” padronizado pelo Serviço de Patologia Clínica do Hospital Sousa Martins (Tabela 1).

	Exame Cultural	Exame Direto - Coloração de Gram
<i>Staphylococcus</i>	Em <b>Gelose Sangue</b> , as colónias desenvolvem-se a 35°C em 18-24h e apresentam-se com 1 a 3 mm de diâmetro com superfície lisa e brilhante, bordo inteiro, consistência “gordurosa”, aspeto opaco, de cor variável entre o branco e o amarelo; verifica-se por vezes existência de <b>hemólise</b> .	Cocos Gram positivos
<i>Streptococcus</i> <b>β-hemolítico</b>	As colónias apresentam-se com 0,5 a 1 mm de diâmetro, transparentes ou translúcidas, pouco convexas de superfície lisa e bordo inteiro com larga zona de β hemólise quando o sangue utilizado é de carneiro.	Cocos Gram positivos (esféricos de 0,7 a 0,9 μm que ocorrem em cadeias de comprimento variável)
<i>Neisseria</i>	A morfologia das colónias é variável. Têm capacidade variável, tendem a ser pequenas, brilhantes e elevadas. Nas subculturas estas características podem modificar-se. Devem ser feitos esfregaços das colónias para comprovação da morfologia característica.	Cocos Gram negativos
<i>Haemophilus</i>	A maioria das espécies de <i>Haemophilus</i> exigem hemina (fator X) e NAD (fator V) para o seu desenvolvimento, por isso não crescem em gelose com sangue de carneiro. No entanto, algumas espécies bacterianas produzem NAD pelo que, na gelose com sangue de carneiro, podem desenvolver-se colónias de <i>Haemophilus spp</i> à volta dessas colónias produtoras de NAD - fenómeno de “satelitismo”. As colónias são pequenas, redondas, convexas ou achatadas, translúcidas com a zona central mais opaca e com cheiro característico.	Cocobacilos Gram negativo pleomórficos

Tabela 2. 1 - Identificação de microrganismos (Fonseca. e Sebastião, 2004)

### 2.5.3 Prova da Catalase

Numa lâmina de vidro colocou-se uma gota de peróxido de hidrogénio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) a 3% e suspendeu-se uma a duas colónias, retiradas de uma cultura pura, com o auxílio de uma

ansa estéril. A produção quase imediata de bolhas gasosas à superfície da lâmina indica a reação positiva (Cruckshank, *et al.*, 1993, Lim, 1998, Mahon, *et al.*, 2007). Esta prova destinou-se a revelar a produção de cataláse, enzima que catalisa a decomposição do peróxido de hidrogénio, com libertação de oxigénio

#### **2.5.4 Prova da Oxidase**

A prova da oxidase é um procedimento qualitativo para determinar a presença ou a ausência de atividade do citocromo c oxidase em bactérias. As citocromo-oxidases são hemoproteínas que atuam como elo final na cadeia de respiração aeróbia transferindo eletrões (hidrogénio) para o oxigénio (último aceitador), com formação de água.

Colocou-se uma colónia isolada para a execução da técnica e com uma ansa estéril não metálica de forma a evitar uma reação falso positiva adicionou-se a colónia a testar ao reagente tetrametil-p-fenilenodiamina dihidroclorato (reagente de Kovac), uma amina aromática dimetilada nos seus grupos amina (Quilaban; lote:1130053) e que é incolor no seu estado reduzido (reação negativa) e de cor roxa escura no seu estado oxidado (reação positiva). (Cruckshank, *et al.*, 1993, Forbes, *et al.*, 2002, Mahon, *et al.*, 2007).

#### **2.5.5 Identificação por testes de aglutinação**

De forma a identificar e tendo em conta a caracterização fenotípica dos isolados recorreu-se ao teste de identificação rápida PASTOREX TM STAPH- PLUS (Bio-Rad®, França; Lote 102504).

Consiste num teste rápido de aglutinação de partículas de látex, para a identificação de estirpes de *S. aureus* a partir de meios de isolamento. Permite a deteção simultânea do fator de afinidade para o fibrinogénio, também conhecido como coagulase unida ao “Clumping fator”, da proteína A, que apresenta afinidade pelo fragmento cristalizável (Fc) das gamaglobulinas (IgG) e de um antígeno capsular específico de *S. aureus*. A combinação de fibrinogénio, IgG e anticorpos monoclonais anticapsulares no mesmo reagente, permite detetar tanto as estirpes muito capsuladas do *S. aureus* como as pouco capsuladas. No caso de estirpes muito encapsuladas, são os anticorpos monoclonais

anticapsulares que aglutinam a bactéria. Nas estirpes que perderam a cápsula, a aglutinação ocorre através do fibrinogénio e das IgG.

Após a adição de uma gota do reagente de látex na carta de aglutinação, juntaram-se 1 a 3 colónias de *Staphylococcus*. A reação positiva manifestou-se pela formação de agregados após 30s. Se a reação for negativa o reagente látex permanece em suspensão homogénea. O aparecimento de uma reação fracamente positiva e lenta pode significar uma reação inespecífica (Bio-Rad, 2011).

## 2.6 Identificação Bioquímica Automatizada

Com o objetivo de identificar os microrganismos de maior relevância presentes nas amostras biológicas utilizou-se as cartas de identificação VITEK<sup>®</sup> e o equipamento VITEK<sup>®</sup> 2 Compact (bioMérieux<sup>®</sup>, Inc).

A carta de Identificação VITEK<sup>®</sup> 2 baseia-se em métodos bioquímicos estabelecidos e em substratos recentemente desenvolvidos, que medem a utilização da fonte de carbono, atividade enzimática e resistência, sendo assim reconhecido um padrão único de identificação. Se não for reconhecido um padrão único de identificação, é fornecida uma lista de possíveis microrganismos ou a estirpe é determinada como estando fora da capacidade da base de dados do sistema (bioMérieux, 2011).

Cada carta é constituída por 64 poços de crescimento para testes biológicos e cada poço contém uma suspensão, obtida por secagem ao ar, de um agente bioquímico. Neste sentido, não são necessários reagentes adicionais, pelo que se elimina o risco de omissão ou de erro e de contaminação por parte do operador. De notar que, a utilização e escolha de um tipo da “carta” foi feita tendo em conta, por um lado o resultado do Gram e por outro lado os restantes testes de avaliação microbiológica. As cartas de identificação utilizadas foram as cartas de GNI – identificação de Gram negativos; GPI – identificação de Gram Positivos; NHI – identificação de *Neisseria* e *Haemophilus*

A Carta GNI incorpora 47 testes bioquímicos e um poço de controlo negativo. O poço de Controlo negativo para a descarboxilase é usado como valor de base para os poços de teste descarboxilase. Os resultados finais estão disponíveis em aproximadamente 10 horas.



Quanto às cartas GPI e NHI incorporam 43 e 30 testes bioquímicos, respetivamente. Os seus resultados estão disponíveis entre oito e seis horas. De notar que, para a identificação dos microrganismos são necessários determinados requisitos de cultura (bioMérieux, 2009) (Tabela 2).

Uma colónia da estirpe a identificar foi suspensa em 3,0 ml de solução salina. Homogeneizou-se a suspensão e colocou-se juntamente com a carta de identificação respetiva na câmara de enchimento do equipamento.

Requisitos de Cultura					
VITEK® Carta	Meio	Tempo de Cultura	Condições de condições	Densidade de Inócuo	Tempo desuspensão antes de carregar o equipamento
GN	Chocolate Polyvitex	18 a 24 horas	35°C a 37°C em condições aeróbias, sem CO <sub>2</sub>	0,50 a 0,63 Padrão McFarland	<30 Minutos
	Gelose Columbia				
GP	Chocolate Polyvitex	12 a 48 horas	35°C a 37°C; 5 a 10% de CO <sub>2</sub> ou condições aeróbias, sem CO <sub>2</sub>	0,50 a 0,63 Padrão McFarland	<30 Minutos
	Gelose Columbia				
NH	Chocolate Polyvitex	Fastidiosos: 1 a 24 horas	Fastidiosos: 35 °C a 37 °C com CO <sub>2</sub> entre 5% a 10%	2,70–3,30 Padrão McFarland	<30 Minutos

**Tabela 2. 2** - Requisitos de cultura para a execução de uma carta de identificação Fonte: bioMérieux®. 2007

## 2.7 Tratamento Estatístico

Para sistematizar e realçar a informação fornecida pelos dados aplicou-se técnicas de estatística descritiva e da estatística inferencial. Os dados foram tratados informaticamente, recorrendo ao programa de tratamento estatístico *SPSS (Statistical Package for the Social Science)*, na versão 19.0 de 2011 e as técnicas de estatística utilizadas foram: frequências absolutas (n) e relativas (%); medidas de tendência central: média aritmética ( $\bar{x}$ ) e mediana ( $M_d$ ); medidas de dispersão ou variabilidade: desvios padrão (s), valor mínimo ( $x_{\min}$ ) e valor máximo ( $x_{\max}$ ). Aplicaram-se os seguintes testes estatísticos: teste de Wilcoxon, teste U de Mann-Whitney, teste Kruskal-Wallis e teste exato de Fisher.

A natureza das variáveis envolvidas no estudo e o tamanho da amostra determinaram a utilização de testes não paramétricos.

Em todos os testes fixou-se o valor 0.050 como valor máximo da probabilidade do erro tipo I, ou seja, como valor abaixo do qual se considerou que as relações ou diferenças em estudo eram estaticamente significativas. Todas as diferenças estatisticamente significativas foram representadas graficamente.

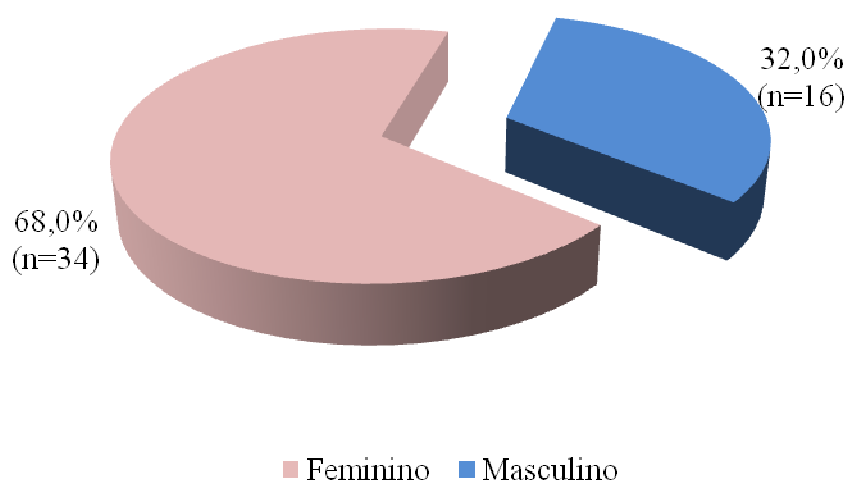
### **III- Resultados e Discussão**

---

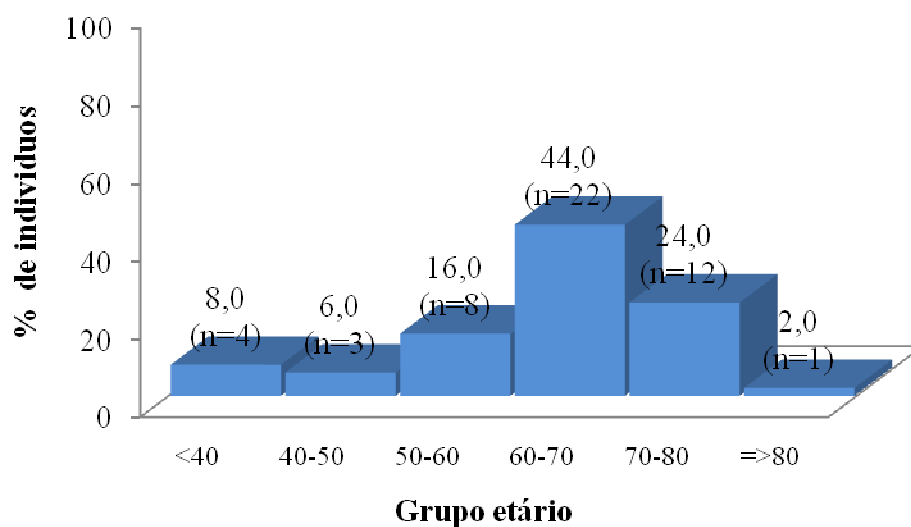
### 3.1 Caracterização da população em estudo

Sendo a rinite alérgica, a sinusite e a rinossinusite um processo inflamatório que conduz à alteração estrutural e funcional da mucosa (aumento do nº de eosinófilos locais, aumento da vasodilatação, aumento da permeabilidade, etc.) existe uma maior probabilidade da sua colonização por microrganismos potencialmente patogénicos durante o curso da doença. Constituindo a água termal um meio de recuperação da mucosa afetada, procedeu-se á avaliação das alterações microbiológicas, no que respeita á colonização, da mucosa do trato respiratório superior após tratamento termal.

Neste sentido, numa fase inicial realizou-se uma avaliação preliminar dos inquiridos e caracterizaram-se os elementos constituintes da amostra no que respeita aos dados pessoais. Verificou-se que, dos 50 inquiridos 68,0% pertenciam ao sexo feminino e apenas 32,0 % ao sexo masculino (Figura 3.1). As idades variavam entre 30 e 82 anos, sendo a média  $63,16 \pm 12,36$  anos. Verificou-se, também, que 44,0% dos inquiridos tinham entre 60 e 70 anos, seguidos de 24,0% que pertenciam ao grupo etário dos 70 aos 80 anos. Metade dos inquiridos tinha, pelo menos, 65 anos (Figura 3.2).

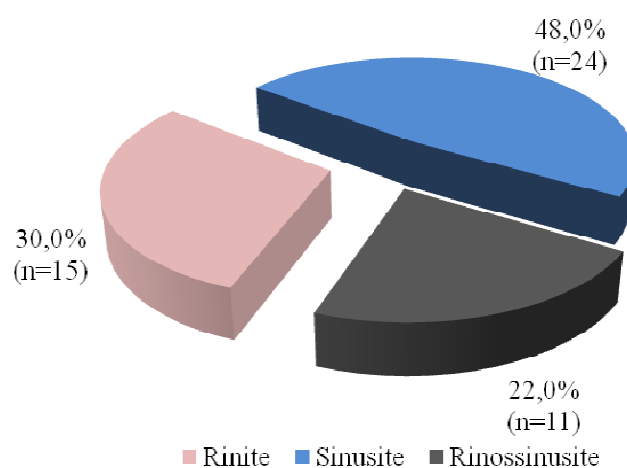


**Figura 3. 1** - Inquiridos segundo o sexo



**Figura 3. 2** - Inquiridos segundo o grupo etário

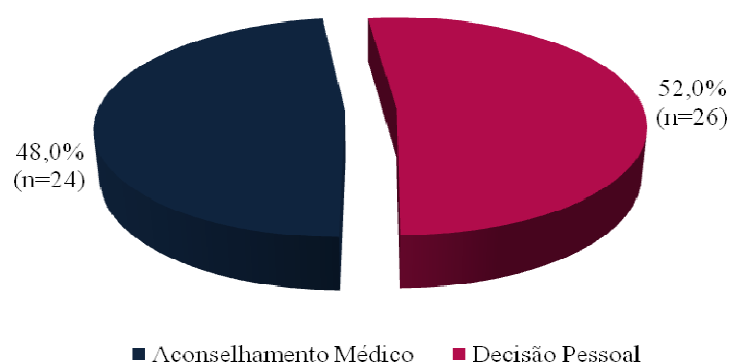
No que respeita à condição clínica dos indivíduos, verificou-se que 48,0 % dos inquiridos sofriam de sinusite, 30,0 % tinham rinite e 22,0 % afirmaram sofrer de rinossinusite. Constatou-se ainda que a maioria dos elementos da amostra em estudo (72,0%) afirma não sofrer de patologia de origem alérgica (Figura 3.3).



**Figura 3. 3**- Inquiridos segundo os problemas respiratórios

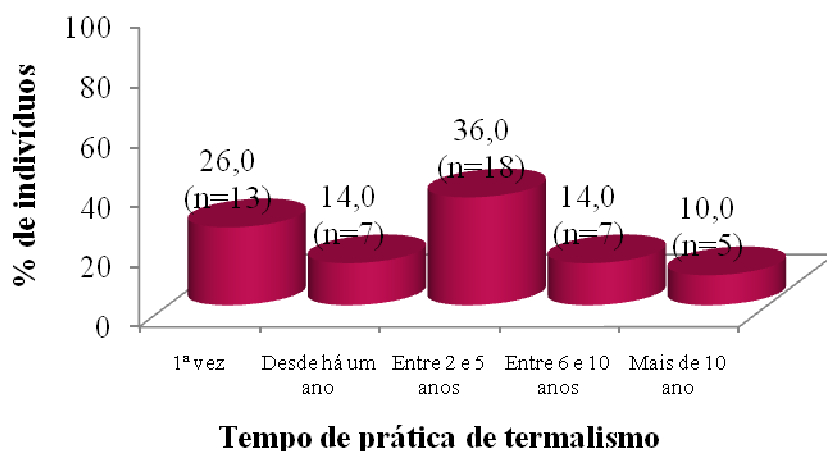
Face à avaliação dos dados referentes ao termalismo e da análise da Figura 3.4 verificou-se que a maioria dos inquiridos, 52,0 % recorreu ao tratamento termal por decisão pessoal, no entanto, verificou-se uma proximidade na percentagem de indivíduos que recorreu ao termalismo por aconselhamento médico (48,0 %) (Figura 3.4).

De facto, o potencial da medicina tradicional começa também a ser alterado, por um lado assiste-se a uma diminuição por parte dos indivíduos de crenças e tabus, e por outro lado o custo elevado dos fármacos leva a que os clínicos optem por indicar alternativas de tratamento com efeitos que se manifestem a médio/curto prazo. Neste sentido, apesar de segundo a OMS se assistir à falta de ensaios controlados e evidências científicas nesta área, cada vez mais, face aos resultados obtidos, poderá dizer-se que os clínicos recomendam o tratamento termal como alternativo ao tratamento farmacológico.



**Figura 3. 4 -** Inquiridos segundo a recomendação do tratamento termal

Dos inquiridos 36,0% recorrem ao tratamento termal entre 2 e 5 anos, 26,0 % fizeram este tipo de tratamento pela primeira vez (Figura 3.5). A maioria dos inquiridos (98,0%) afirmou recorrer ao termalismo uma vez ao ano e a maior parte (68,0 %) recorreu ao termalismo como única terapêutica, o que confirma o anteriormente discutido.



**Figura 3. 5** - Inquiridos segundo o tempo de prática de termalismo

Relativamente ao tipo e duração dos tratamentos, 84,0 % dos indivíduos fez o tratamento termal que consistiu nas seguintes técnicas de aplicação: nebulização individual, irrigação nasal, aerossol sónico e pulverização faríngea. A média de duração dos tratamentos foi aproximadamente de 13 dias ( $12,7 \pm 1,6$ ). Os 35 inquiridos a realizar terapia termal há mais de um ano afirmaram que a irrigação nasal é o tratamento mais eficaz.

Ottaviano *et al.* (2010), obtiveram os resultados semelhantes recomendando a irrigação nasal para o tratamento de problemas nasais. Existe no entanto, alguma controvérsia quanto ao uso de soluções de irrigação nasal com diferentes concentrações e aditivos em solução. Tem também sido sugerido em vários estudos que o tratamento inalatório nasal promove a melhoria dos sintomas nasais e a qualidade de vida de indivíduos com patologia do trato respiratório superior, ao melhorar por um lado a função mucociliar, diminuir o edema da mucosa nasal, diminuir os mediadores inflamatórios e por outro lado ao promover a limpeza mecânica do muco expirado (Mora, *et al.*, 2003, Ottaviano, *et al.*, 2010, Salami, *et al.*, 2010).

### 3.2 Caracterização da flora microbiana nasal e da orofaringe antes e após tratamento termal

A flora microbiana normal do trato respiratório superior é uma flora mista abundante, caracterizando-se pela presença de microrganismos como *Staphylococcus*, *Neisseria*, *Streptococcus*, *Haemophilus* e alguns *Bacillus* Gram negativos (Konno, *et al.*, 2007)

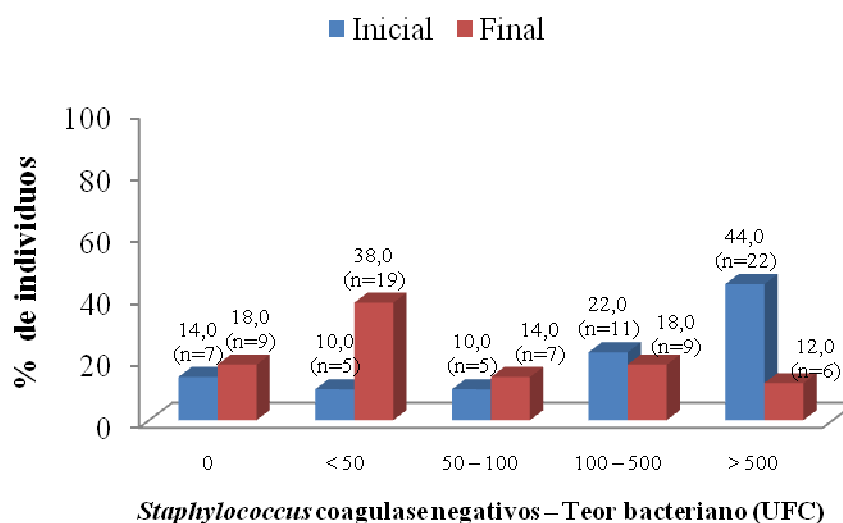
Com base nos estudos comparativos, da flora nasal e da orofaringe, entre o início e o fim do tratamento avaliou-se, numa fase preliminar, o número de indivíduos em que cada estirpe foi isolada. Posteriormente avaliou-se os intervalos de contagem referente a cada estirpe.

Neste sentido verificou-se no início do tratamento, na flora nasal, a presença de *Staphylococcus* coagulase negativos em 43 dos elementos constituintes da amostra. Sendo que em 30 dos doentes (67.0%) verificou-se um decréscimo do teor bacteriano (UFC) após o tratamento termal. No que respeita á flora orofaríngea observou-se uma diminuição em 5 dos 7 casos em que o *Staphylococcus* coagulase negativo foi inicialmente isolado o que corresponde a uma diminuição da colonização em 71,4% dos inquiridos.

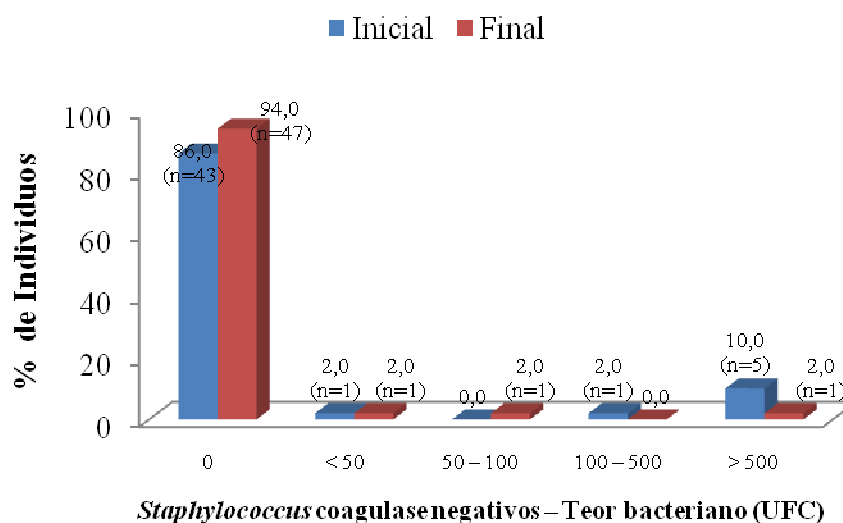
Comparando a flora nasal e da orofaringe, entre o início e o fim do tratamento verificou-se que em termos desta estirpe existem diferenças estatisticamente significativas ao nível da flora nasal (Teste Wilcoxon,  $p < 0.001$ ) (Figura 3.6) e da flora da orofaringe (Teste Wilcoxon,  $p = 0.039$ ) (Figura 3.7)

Comparando os intervalos de contagem iniciais e finais verificou-se que houve uma diminuição do teor bacteriano após tratamento termal nos indivíduos com contagens de *Staphylococcus* coagulase negativos mais elevadas (100-500; >500 UFC) e, consequentemente, um aumento dos indivíduos com contagens nos intervalos com teores bacterianos mais baixos (< 50; 50-100 UFC; ) e na ausência desta estirpe. Este facto permitiu concluir que no fim da terapia termal ocorre uma diminuição significativa do teor (UFC) de *Staphylococcus* coagulase negativos em ambas as floras. Assim, no geral verificou-se quer na flora nasal quer na flora da orofaringe uma diminuição da colonização.





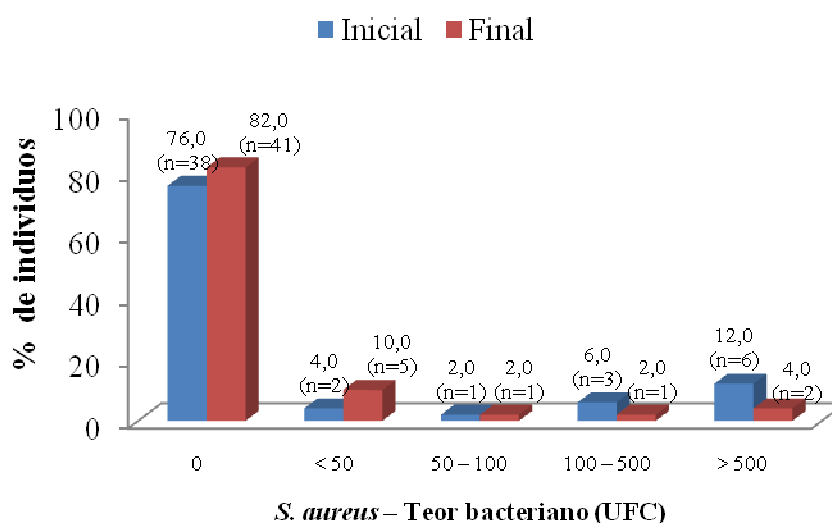
**Figura 3. 6-.** Teor de *Staphylococcus* coagulase negativos na flora nasal antes e após o tratamento termal



**Figura 3. 7-.** Teor de *Staphylococcus* coagulase negativos na flora da orofaringe antes e após o tratamento termal

Quanto à presença de *S. aureus* verificou-se, na flora nasal, diminuição da colonização em 10 dos 12 indivíduos em que inicialmente a estirpe foi identificada. Observou-se uma diminuição do número de casos com teor de bactérias elevados após o tratamento termal (Figura 3.8) Desta forma, ao avaliar-se as contagens, verificou-se na flora nasal uma redução estatisticamente significativa (Teste Wilcoxon,  $p = 0.005$ ) entre os dois momentos de avaliação. De facto, a percentagem de casos com teores superior a 500, diminuiu de

12.0% para 4.0% e a proporção de casos com contagens entre 100 e 500 UFC passou de 6.0% para 2.0%. Por outro lado, a percentagem de casos com contagens inferiores a 50 UFC aumentou de 4.0% para 10.0% e a percentagem de casos em que esta estirpe não estava presente aumentou de 76.0% para 82.0% (Figura 3.8). A análise dos dados desta estirpe na flora da orofaringe não permitiu a obtenção da significância estatística (Teste Wilcoxon,  $p = 0.157$ ) (Tabela 3.1). No entanto ocorreu diminuição da colonização nos dois elementos da amostra em que a estirpe foi identificada.



**Figura 3. 8** - Teor de *S. aureus* na flora nasal antes e após o tratamento termal

Flora		Orofaringe	
<i>S. aureus</i> – Teor bacteriano (UFC)		Inicial	Final
0	N	48	49
	%	96.0	98.0
< 50	n	1	-
	%	2.0	0.0
50 – 100	n	-	-
	%	0.0	0.0
100 – 500	n	-	1
	%	0.0	2.0
> 500	n	1	-
	%	2.0	0.0
Teste Wilcoxon		$p = 0.157$	

**Tabela 3. 1-** Teor de *S. aureus* na flora da orofaringe antes e após o tratamento termal

Um estudo desenvolvido por Zelding *et al.* (2008) em pacientes com rinite alérgica persistente mostrou a ocorrência de colonização por *S. aureus*. Este microrganismo contribui para a inflamação e a resposta alérgica nos indivíduos com esta patologia, influenciando quer os sintomas, quer os próprios marcadores imunológicos. Um estudo desenvolvido pela Faculdade de Medicina do Cairo em 20 indivíduos com rinite alérgica persistente detetou *S. aureus* na mucosa nasal de 80% dos indivíduos, verificando-se uma correlação positiva entre a contagem deste microrganismo e a presença de marcadores imunológicos como IgE e IL-4 (Refaat, *et al.*, 2009). Os resultados são explicados pelo facto do *S. aureus* produzir enterotoxinas com capacidade superantigénica, o que contribui para o aumento da síntese de moléculas pró-inflamatórias. O aumento do processo inflamatório predispõe estes indivíduos a um maior risco de colonização por microrganismos potencialmente patogénicos. Simultaneamente um estudo desenvolvido por Larson e Han (2011) em indivíduos com diagnóstico de rinosinusite crónica isolou, além de *S. aureus*, *Staphylococcus* coagulase negativos e afirmou que, embora não reconhecendo o mecanismo exato responsável pela inflamação da mucosa, este microrganismo tem um papel preponderante no aumento da inflamação. Admite-se, por isso, a possibilidade de atividade superantigénica característica do género estar associada à ativação de mediadores inflamatórios. No entanto, e face ao facto da rinosinusite crónica representar um grupo heterogéneo de doenças e, consequentemente, múltiplas interações entre o indivíduo e o meio, atualmente assiste-se na literatura ao aparecimento um novo paradigma associado à presença de biofilmes. Foreman *et al* (2011) sugerem que a associação de *S.aureus* ao biofilme de indivíduos com rinosinusite crónica, bem como a sua atividade como superantigénio constitui um fator potencial para o processo infamatório associado à doença.

Desta forma, e face aos resultados obtidos, poderá admitir-se que a água termal do tipo sulfúrea ao provocar uma diminuição do teor bacteriano, nomeadamente *S. aureus* e *Staphylococcus* coagulase negativos poderá conduzir a uma diminuição do processo inflamatório e consequentemente a uma melhoria geral da sintomatologia. Ottaviano *et al* (2010), num estudo bacteriológico desenvolvido em 80 pacientes com rinosinusite crónica, descreveu que um mês após terapia termal (irrigação nasal), apenas em 5 indivíduos da amostra em estudo foi isolado *S.aureus*.

Outros estudos recentes evidenciam a modelação do sistema imune por águas do tipo sulfúreas. Salami *et al.* (2008) afirma que as águas termais sulfúreas podem inibir a libertação de IL-2 e do INF- $\gamma$ , sugerindo que a inalação do vapor de água consegue modelar alguns aspetos fisiopatológicos das células linfocíticas T e de memória. Sabe-se que a INF- $\gamma$  e a IL-2 são as primeiras citocinas ativadas a induzir a produção de outros mediadores inflamatórios.

Neste sentido, a eficácia da água termal atua em dois sentidos, por um lado apresenta efeito terapêutico na inflamação e, por outro lado, um potencial efeito antimicrobiano. Ambos os efeitos conduzem à diminuição da sintomatologia e aumento da qualidade de vida dos indivíduos.

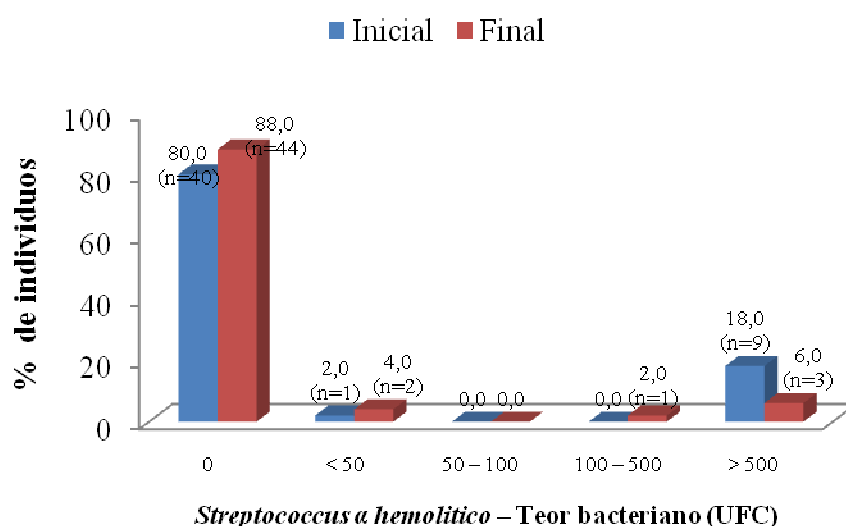
De referir, que ao verificar-se uma diminuição do processo inflamatório, quer por diminuição *S. aureus*, quer por diminuição de *Staphylococcus* coagulase negativos, verificou-se também, por ação da água termal, uma recuperação do ciclo lesão/reparação da mucosa diminuindo assim a probabilidade de colonização por microrganismos potencialmente patogénicos. A recuperação deste ciclo deve-se à diminuição do processo inflamatório e à normalização do fluxo mucociliar, processo que se associa a este tipo de águas.

Staffieri *et al.* (2008) encontraram ainda uma correlação direta entre a irrigação nasal com água termal do tipo sulfúrea e a secreção nasal de IgA, concluindo que a água termal aumenta a secreção desta imunoglobulina. O aumento da secreção de IgA conduz à opsonização de bactérias potencialmente patogénicas, impedindo a sua adesão endotelial, o que permite o equilíbrio da flora normal e a consequente diminuição de estirpes patogénicas.

No que concerne ao *Streptococcus*  $\alpha$  hemolítico verificou-se na flora nasal uma diminuição da colonização em 6 dos 10 de casos em que a estirpe foi isolada no início do tratamento. Observou-se diminuição nos intervalos de contagens, sendo essas diferenças estatisticamente significativas (Teste Wilcoxon,  $p = 0.024$ ) (Figura 3.9). Na flora da orofaringe, a comparação dos intervalos de contagem indica também a existência de uma diminuição do número de unidades formadoras de colónias, verificando-se uma redução de casos com contagem superior a 500 UFC, passando a percentagem de casos de 98.0%, no

início do tratamento, para 96.0%, no final. No entanto, os dados não permitiram a obtenção de significância estatística (Teste Wilcoxon,  $p = 0.180$ ) (Tabela 3.2). No que respeita ao número de casos em que a estirpe foi isolada verificou-se que apenas em 2 dos 50 elementos da amostra ocorreu diminuição.

Os investigadores Carroll e Reimer afirmam, baseando-se numa vasta bibliografia, a existência de uma correlação entre a cultura microbiana de zaragatoa de indivíduos com sinusite crónica e a presença de *Streptococcus* (Carroll e Reimer, 1996). A sua diminuição pelo efeito da água termal, pode eventualmente conduzir a uma diminuição da sintomatologia. De notar que, apesar de este microrganismo constituir parte da flora normal do trato respiratório superior vários estudos sugerem que a sua presença deve ser avaliada face às interações bacterianas que produz, na medida em que esta estirpe se caracteriza pela produção de bacteriocinas e proteínas extracelulares tóxicas o que, por um lado, pode conduzir ao desaparecimento de microrganismos com um papel relevante na flora normal e, por outro lado, pode promover uma colonização por microrganismos potencialmente patogénicos (Brook, 2005).



**Figura 3. 9** – Teor de *Streptococcus α hemolítico* antes e após o tratamento termal

Flora		Orofaringe	
<i>Streptococcus α</i> hemolítico – Teor bacteriano (UFC)		Inicial	Final
0	n	-	1
	%	0.0	2.0
< 50	n	-	-
	%	0.0	0.0
50 – 100	n	-	-
	%	0.0	0.0
100 – 500	n	1	1
	%	2.0	2.0
> 500	n	49	48
	%	98.0	96.0
Teste Wilcoxon		p = 0.180	

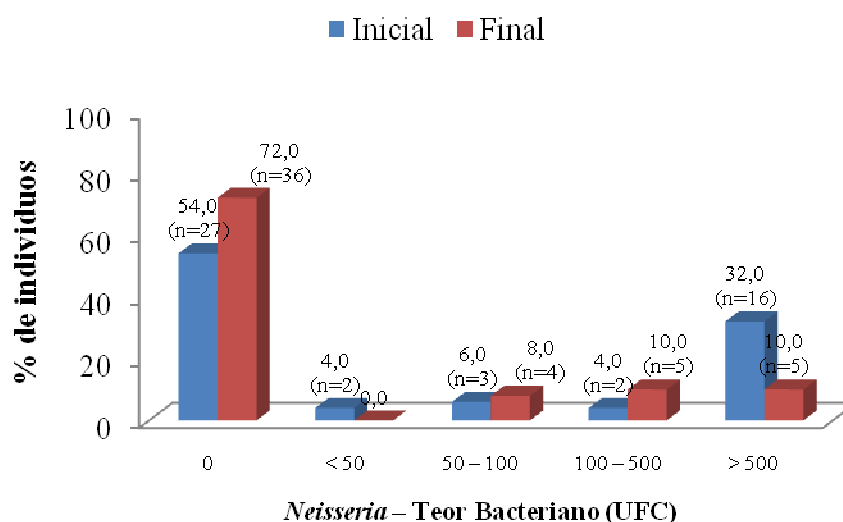
**Tabela 3. 2-** Teor de *Streptococcus α* hemolítico na flora da orofaringe antes e após o tratamento termal

Para o género *Neisseria* observou-se diminuição de casos na flora nasal, de 6.0% no início para 2.0% no fim (Tabela3.3). No entanto, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas (Teste Wilcoxon,  $p = 0.102$ ). No que respeita à orofaringe, observou-se a existência de diferença estatisticamente significativa (Teste Wilcoxon,  $p = 0.008$ ) e os dados revelam uma diminuição do número de unidades formadoras de colónias. No início 32,0% dos casos tinham contagens superiores a 500 UFC e no final esta proporção foi de 10.0%, tendo aumentado as proporções de casos nos intervalos 100-500 UFC e 50-100 UFC (Figura 3.10).

Neste sentido verificou-se no início do tratamento, na flora orofaríngea, a presença de *Neisseria* em 22 dos elementos constituintes da amostra. Sendo que em 18 dos inquiridos (81.8%) verificou-se um decréscimo do teor bacteriano (UFC) após o tratamento termal. No que respeita à flora nasal observou-se uma diminuição em 2 dos 2 casos em que a estirpe foi inicialmente isolada.

Flora		Nasal	
<i>Neisseria</i> – contagem (UFC)		Inicial	Final
0	n %	47 94.0	49 98.0
< 50	n %	- 0.0	1 2.0
50 – 100	n %	- 0.0	- 0.0
100 – 500	n %	1 2.0	- 0.0
> 500	n %	2 4.0	- 0.0
Teste Wilcoxon		p = 0.102	

**Tabela 3. 3-** Teor de *Neisseria* na flora nasal antes e após o tratamento termal



**Figura 3. 10** - Teor de *Neisseria* na flora da orofaringe antes e após o tratamento termal

Forbes et al. (2002) consideram que apesar de se tratar de a *Neisseria* um microrganismo comensal é um dos microrganismos potencialmente patogênicos reconhecido como um dos principais causadores de sinusite e otite média. *M. catarrhalis* é considerado um dos principais microrganismo patogênico oportunista do trato respiratório superior quando as condições se alteram. Desta forma, a diminuição da colonização com o tratamento termal, sugere que a terapia termal poderá impedir que em indivíduos com rinite alérgica se

associe sinusite e em indivíduos com sinusite e rinossinusite haja uma diminuição da sintomatologia.

Quanto aos *Bacilos* Gram positivos verificou-se, tanto para a flora nasal, como para a flora da orofaringe, um aumento da percentagem de casos com teor bacteriano nulo após tratamento, sendo esse aumento de 60.0% para 70.0% na flora nasal e de 92.0 % para 96.0% na orofaringe. As diferenças observadas não foram estatisticamente significativas (Teste Wilcoxon,  $p = 0.210$  e  $p = 0.157$ , respetivamente para a flora nasal e da orofaringe) (Tabela 3.4). No entanto verificou-se diminuição da colonização em 11 dos 20 indivíduos em que antes da terapia termal a estirpe foi isolada (55%).

Flora <i>Bacilos</i> Gram Positivos – Teor bacteriano (UFC)		Nasal		Orofaringe	
		Inicial	Final	Inicial	Final
0	n %	30 60.0	35 70.0	46 92.0	48 96.0
< 50	n %	2 4.0	- 0.0	- 0.0	- 0.0
50 – 100	n %	- 0.0	- 0.0	- 0.0	- 0.0
100 – 500	n %	3 6.0	5 10.0	- 0.0	- 0.0
> 500	n %	15 30.0	10 20.0	4 8.0	2 4.0
Teste Wilcoxon		$p = 0.210$		$p = 0.157$	

**Tabela 3. 4-** Bacilos Gram positivos em função da flora antes e após tratamento termal

No que concerne à estirpe *H. influenzae* verificou-se apenas o seu isolamento em dois casos pelo que não foi possível fazer tratamento estatístico nem tirar conclusões.

Os resultados mostram que foram, ainda, identificados outros microrganismos, tais como *Enterobacter aerogenes*, *Proteus* e *Klebsiella pneumoniae*, na flora nasal, e *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*, na flora da orofaringe. Estes microrganismos foram identificados num número reduzido de casos (20.0% na flora nasal e 15.0% na flora da orofaringe) e, na maioria deles, as contagens foram inferiores a 50 UFC, não se verificando variações em função do tratamento termal (Tabela 3.5).



Flora		Nasal		Orofaringe	
Outros microrganismos		Inicial	Final	Inicial	Final
<i>Enterobacter aerogenes</i>	n	2	2	-	-
	%	10.0	10.0	0.0	0.0
<i>Proteus</i>	n	1	1	-	-
	%	5.0	5.0	0.0	0.0
<i>Escherichia coli</i>	n	-	-	1	-
	%	0.0	0.0	5.0	0.0
	%	0.0	0.0	5.0	0.0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	n	1	1	2	1
	%	5.0	5.0	10.0	5.0
Outros microrganismos – contagem (UFC)		Inicial	Final	Inicial	Final
0	n	46	46	47	49
	%	92.0	92.0	94.0	98.0
< 50	n	3	3	3	1
	%	6.0	6.0	6.0	2.0
50 – 100	n	-	-	-	-
	%	0.0	0.0	0.0	0.0
100 – 500	n	1	-	-	-
	%	2.0	0.0	0.0	0.0
> 500	n	-	1	-	-
	%	0.0	2.0	0.0	0.0

**Tabela 3. 5** – Outros microrganismos em função da flora antes e após tratamento termal.

Por último e tendo em conta a avaliação de cada estirpe observou-se diminuição da colonização por cocos Gram positivos. De facto, verificou-se na flora nasal uma diminuição da contagem de UFC em 38 dos 50 inquiridos (76%) no fim do tratamento termal. Na flora da orofaringe essa diminuição foi de 14% (Tabela 3.6). No que respeita aos cocos gram negativos a diminuição do teor bacteriano ocorreu em 3 e 18 dos inquiridos, respetivamente na flora nasal e da orofaringe (Tabela 3.7). Desta forma e face aos resultados poderá admitir-se a eficácia clínica da terapia termal.

Os efeitos da terapia termal podem ser divididos em 3 categorias: mecânicos, térmicos e químicos que em dosagem calculada e precisa podem ser benéficos para a saúde. O estímulo térmico provoca efeitos vasodilatadores o que promove o aumento da permeabilidade vascular e a diapedese. Desta forma, o aumento dos neutrófilos contribui para a reparação tecidual da mucosa, fagocitando os microrganismos patogénicos e os

tecidos mortos. O estímulo mecânico é produzido pela ação da água e promove, por um lado, o transporte mucociliar normalizado e, por outro lado, uma redução da resistência nasal. O estímulo químico associa-se à ação fisiológica de determinados constituintes característicos de cada tipo de água (Bender, *et al.*, 2005, Nasermoaddeli e Kagaminor, 2005, Baleiras, 2008, Roques e Queneau, 2009).

Flora	Nasal	Orofaringe
Diminuição do teor de cocos Gram positivos (UFC)	n	N
Superior a 500 para 100 a 500	8	2
Superior a 500 para 50 a 100	4	0
Superior a 500 para inferior a 50	8	0
Superior a 500 para 0	4	2
Entre 100 a 500 para 50 a 100	3	0
Entre 100 a 500 para inferior a 50	5	0
Entre 100 a 500 para 0	1	2
Entre 50 a 100 para inferior a 50	4	0
Entre 50 a 100 para 0	0	0
Inferior a 50 para 0	1	1
Total	38	7

**Tabela 3. 6** - Número de casos em que se verificou diminuição do teor de cocos Gram positivos (UFC)

Flora	Nasal	Orofaringe
Diminuição do teor de cocos Gram negativos (UFC)	n	n
Superior a 500 para 100 a 500	0	4
Superior a 500 para 50 a 100	0	1
Superior a 500 para inferior a 50	0	0
Superior a 500 para 0	2	7
Entre 100 a 500 para 50 a 100	0	1
Entre 100 a 500 para inferior a 50	1	0
Entre 100 a 500 para 0	0	1
Entre 50 a 100 para inferior a 50	0	0
Entre 50 a 100 para 0	0	2
Inferior a 50 para 0	0	2
Total	3	18

**Tabela 3. 7-** Número de casos em que se verificou diminuição do teor de cocos Gram negativos (UFC)

De referir que a água termal do tipo sulfúrea apresenta na sua constituição elevadas concentrações de enxofre e o seu efeito fundamenta-se sobretudo na reabsorção deste

composto. Pereira (1991) sugere que a principal ação farmacodinâmica do enxofre se associa à captação de hidrogénio e oxigénio para formar respetivamente  $\text{HS}^-$  e derivados oxidados como sulfitos e sulfatos. Ao  $\text{HS}^-$  é atribuído por diversos estudos a ação anti-inflamatória, bactericida, trófica e antioxidante da água termal. Neste sentido os resultados obtidos eventualmente podem estar associados à predominância deste composto. De notar que, o  $\text{HS}^-$  é um composto lipofílico e já encontrado em quantidades milimolares a nível celular (Mirandola, *et al.*, 2007). Neste sentido, poderá sugerir-se que o enxofre produz um efeito tóxico nas bactérias Gram positivas, visto que os resultados deste estudo evidenciam uma diminuição do teor deste grupo de microrganismos após tratamento.

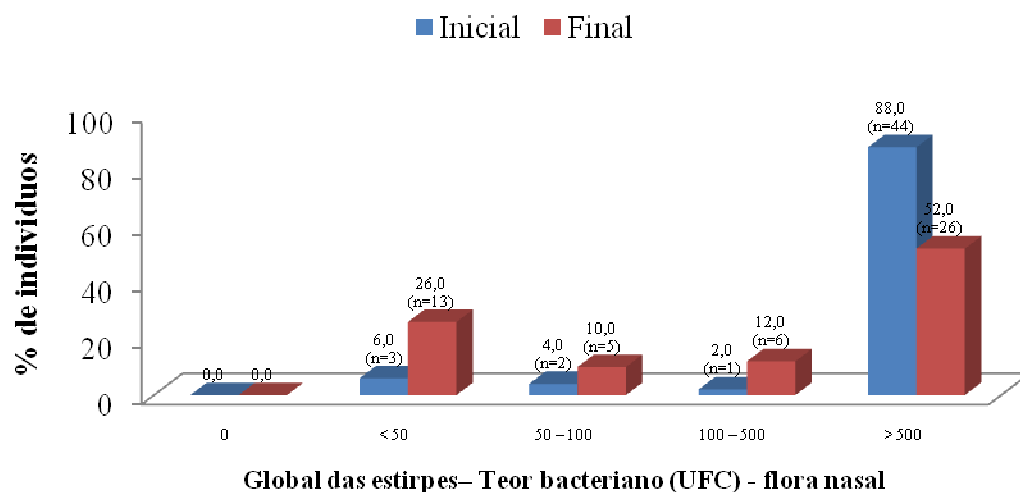
Matz *et al* (2003) em estudos dermatológicos sugeriram que o  $\text{HS}^-$  ao reagir com radicais de oxigénio à superfície endotelial pode originar o ácido pentatiónico ( $\text{H}_2\text{S}_5\text{O}_6$ ) promovendo o efeito antibacteriano e antifúngico associado a este tipo de água. Este mecanismo sugere que ao nível da mucosa nasal o mesmo processo possa ocorrer.

### **3.4 Avaliação da colonização global nasal e da orofaringe, antes e após tratamento termal.**

Com o objetivo de avaliar a colonização global nasal e da orofaringe procedeu-se à análise conjunta dos resultados obtidos para o total das estirpes numa única variável designada por “Global das estirpes”. Assim, numa fase preliminar avaliou-se globalmente as alterações da colonização após terapia termal e numa segunda fase procedeu-se à comparação dos resultados da colonização da flora, no início e no fim do tratamento, em função dos problemas respiratórios referidos pelos indivíduos da amostra e do uso complementar de outras terapêuticas.

Neste sentido, numa análise global verificou-se uma diminuição estatisticamente significativa da colonização nasal (Teste Wilcoxon,  $p < 0.001$ ) (Figura 3.11). Para contagens superiores a 500 UFC a proporção de casos passou de 88.0% para 52.0%, enquanto que, nos intervalos com contagens mais baixas as percentagens de colonização aumentaram. No intervalo de contagens inferiores a 50 UFC a percentagem de casos passou de 6.0%, no início, para 26.0%, no final (Figura 3.11).

Face aos resultados obtidos poderá admitir-se que a água termal do tipo sulfúrea provoca uma diminuição do teor bacteriano.



**Figura 3.11-** Teor global das estirpes na flora nasal no início e no fim do tratamento

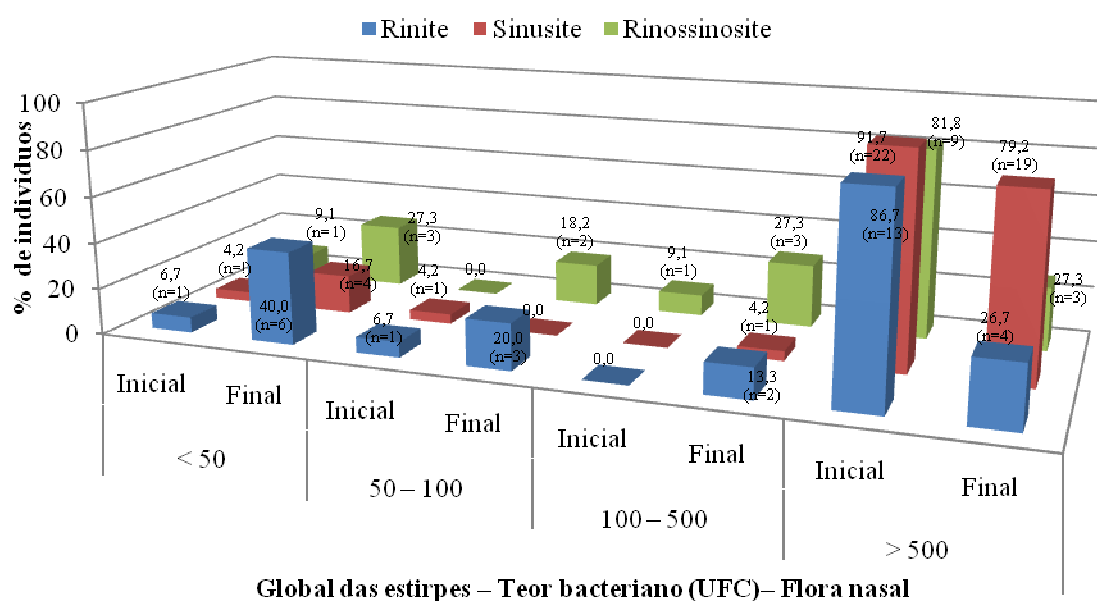
Na flora da orofaringe não foi evidente a diminuição do número global das unidades formadoras de colónias, dado que, antes e após o tratamento, a proporção de casos com valores superiores a 500 UFC foi igual (98.0%) (Tabela 3.6) Concluiu-se que, globalmente, o tratamento termal contribui para diminuição da colonização da flora nasal mas não existem evidência de que tal aconteça na flora da orofaringe

Flora		Orofaringe	
Global das estirpes – contagem (UFC)		Inicial	Final
0	n	-	-
	%	0.0	0.0
< 50	n	1	1
	%	2.0	2.0
50 – 100	n	-	-
	%	0.0	0.0
100 – 500	n	-	-
	%	0.0	0.0
> 500	n	49	49
	%	98.0	98.0
Teste Wilcoxon		p = 1.000	

**Tabela 3.8** - Teor global das estirpes na flora da orofaringe no início e no fim do tratamento.

### 3.3 Avaliação da colonização global nasal e da orofaringe, antes e após tratamento termal, em função dos problemas respiratórios.

A comparação da colonização da flora nasal, no início e no fim do tratamento, em função dos problemas respiratórios referidos pelos indivíduos da amostra, verificou-se que no início do tratamento os níveis de colonização da flora nasal nas três patologias eram idênticos (não se verificaram diferenças estatisticamente significativas (Teste Kruskal-Wallis  $p = 0.719$ ) (Figura 3.12). No fim do tratamento termal verificou-se que a maior diminuição nos níveis de colonização ocorreu nos indivíduos com rinite ou com rinosinusite. Nestas patologias, as percentagens de casos com contagens superiores a 500 UFC diminuíram, respetivamente, de 86.7% para 26.7% e de 81.8% para 27.3% (Figura 3.12). Observou-se que no fim do tratamento existiam diferenças estatisticamente significativas (Teste Kruskal-Wallis ,  $p = 0.006$ ). Realizou-se a mesma comparação para a flora da orofaringe e não se registaram resultados com significância estatística.



**Figura 3. 12** – Teor global das estirpes na flora nasal, antes e após o tratamento termal e em função da patologia

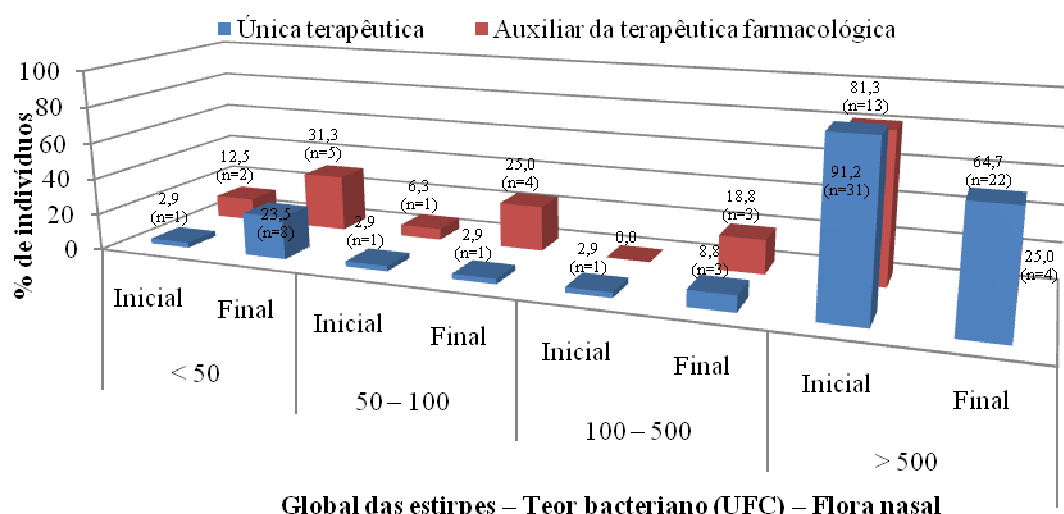
Às águas sulfúreas sódicas, características do Complexo Termal do Cró é reconhecido, como referido anteriormente, além do efeito hidroterápico geral, uma ação específica

(Pereira, 1991). Entre esses efeitos podem considerar-se: ação mucolítica que através do fornecimento de enxofre assimilável promove a estimulação dos movimentos ciliares e também o efeito cicatrizante; ação eutrófica e cicatrizante, através da cedência dos radicais  $\text{HS}^-$  para a formação do ácido mucoitinossulfúrico (leva à ativação das células de revestimento); ação antioxidante (diminuição das espécies reativas de oxigênio (ROS)); a ação resultante do pH alcalino, radicais sulfídricos e temperatura elevada favorecem os movimentos ciliares; atividade anti-histamínica; atividade anti-inflamatória (exercidas sobre os leucócitos) e ação vasodilatadora que pode facilitar a recuperação da mucosa afetada (Bender, *et al.*, 2007, Roques e Queneau, 2009)

É neste sentido que a terapia termal se revela sem dúvida mais eficaz para indivíduos com sintomatologia de origem alérgica. Por um lado, as técnicas termais (irrigação individual, aerossol sónico, nebulização individual) têm ação direta ao nível da mucosa nasal e por outro, a terapia termal promove o equilíbrio da sintomatologia prevenindo infeções secundárias nos seios perinasais (Harrison, *et al.*, 2002).

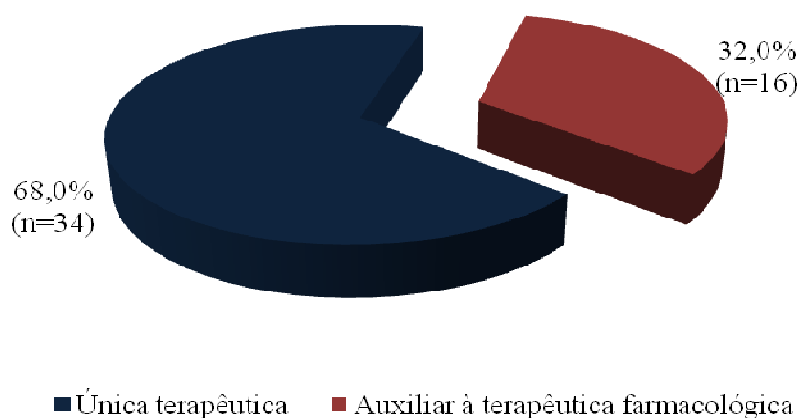
### **3.4 Avaliação dos tratamentos termais como auxiliares de terapêutica ou como terapêutica única**

Por último, com base nos resultados e tendo em conta se os inquiridos recorriam ao tratamento termal como auxiliar de terapêutica ou única terapêutica verificou-se que a diminuição mais acentuada nos níveis de colonização ocorreu em indivíduos que recorriam ao termalismo como auxiliar da terapêutica farmacológica (Teste U de Mann-Whitney,  $p = 0.032$ ). A proporção destes indivíduos com contagens superiores a 500 UFC diminuiu de 81.3%, no início do tratamento, para 25.0% no final (Figura 3.13).



**Figura 3. 13 -.** Teor global das estirpes na flora nasal antes e após o tratamento termal e em função do facto do tratamento termal ser, ou não, a única terapêutica

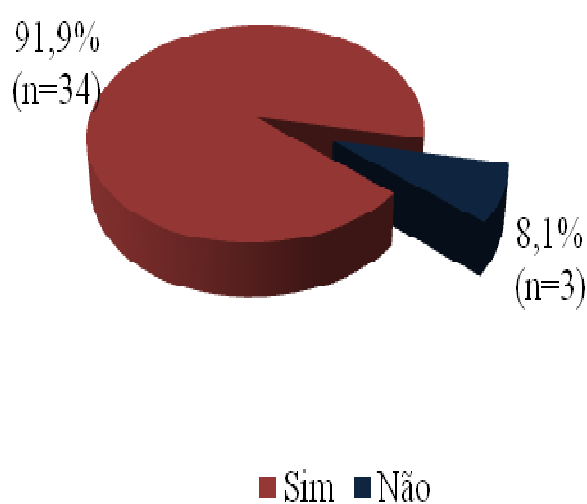
Observou-se, no entanto, que o número de inquiridos a recorrer à terapia termal como única terapêutica é visivelmente superior ao número de indivíduos que a utilizam como auxiliar de terapêutica (Figura 3.14). Considerando o custo-efetivo do uso de várias terapias é de todo mais vantajoso o uso do tratamento termal como única terapêutica. Por um lado, não apresenta efeitos secundários e, por outro lado, esta terapia previne a progressão da doença e da sintomatologia. De referir que o uso da terapia farmacológica associado a terapias alternativas é sem dúvida mais eficaz, como evidenciaram os resultados. No entanto, o uso de excessivo de fármacos conduz a aumento da resistência contra a doença e podem verificar-se efeitos secundários graves.



**Figura 3. 14 -** Inquiridos segundo a situação em que recorrem ao tratamento termal

É importante referir que 46 inquiridos (91,9%) afirmaram que a sua qualidade de vida melhorou após o tratamento termal (Figura 3.15).

Coccheri *et al.* (2007) defendem que os tratamentos termais têm efeitos a médio/curto prazo, são úteis na prevenção e profilaxia das patologias e ainda reduzem o número de internamentos associados a cada doença. Desta forma, poder-se-á dizer, face aos resultados obtidos e à luz da bibliografia atual, que as águas termais são dotadas de efeito terapêutico melhorando a qualidade de vida dos indivíduos.



**Figura 3. 15** - Eficácia do tratamento termal na melhoria da qualidade de vida



## **IV- Conclusão**

---

As patologias do trato respiratório superior são atualmente um problema de saúde a nível global, por atingirem uma elevada proporção da população e, também por sua prevalência estar a aumentar a um ritmo acelerado. Neste sentido, a existência de estudos com resultados reprodutíveis, clinicamente significativos e que evidenciem a terapia de águas sulfúreas como tratamento alternativo a fármacos em doenças crónicas do trato respiratório superior são sem dúvida inovadores.

Os resultados obtidos neste estudo permitem concluir que por ação da água termal do tipo sulfúrea, por mecanismos ainda não completamente investigados, ocorreu uma diminuição da colonização bacteriana, após o tratamento termal em indivíduos com rinite, sinusite e rinossinusite. É de realçar que este decréscimo, no caso da flora nasal, ocorreu essencialmente nas estirpes de *Staphylococcus* coagulase negativo, *S. aureus* e *Streptococcus*  $\alpha$  hemolíticos, enquanto que na flora da orofaringe ocorreu uma diminuição da colonização por *Neisseria* e também por *Staphylococcus* coagulase negativos. Tendo em conta o envolvimento de microrganismos como *Staphylococcus coagulase negativo* e o *S. aureus* na patogénese de doenças como a rinite alérgica e a rinossinusite e à luz da bibliografia atual, conclui-se que a diminuição da colonização destes microrganismos pode conduzir a uma diminuição do processo inflamatório e, conseqüentemente, à melhoria dos sintomas associados ao curso da doença. No caso do género *Neisseria*, pelo facto de este microrganismo estar associado a uma elevada percentagem de casos de sinusite, a diminuição de UFC impede a evolução da rinite alérgica para rinossinusite, uma vez que o aparecimento de sinusite sem rinite é de ocorrência rara. Poderá desta forma concluir-se, e reforçando a bibliografia atual sobre as alterações microbiológicas ao nível da mucosa por ação da água termal, que a água do tipo sulfúrea é dotada de efeito terapêutico, diminuindo globalmente a colonização por bactérias potencialmente patogénicas e recuperando o equilíbrio microbiano da mucosa, o que contribui para a melhoria de patologias como a rinite, sinusite e rinossinusite. No entanto, a terapia termal revela-se mais eficaz na diminuição da flora nasofaríngea em indivíduos com rinite e rinossinusite, o que evidencia que essa eficácia se deve, por um lado ao uso de técnicas termais com ação direta na mucosa e, por outro lado, ao equilíbrio da sintomatologia promovido pela água termal prevenindo assim as infeções secundárias nos seios paranasais.

## **V- Perspetivas Futuras**

---

A falta de evidências científicas prejudica amplamente o reconhecimento da Medicina Termal perante a comunidade científica. Devido às dificuldades metodológicas e à falta de financiamento para a investigação, os efeitos dos tratamentos crenoterápicos raramente foram submetidos a uma rigorosa avaliação através de ensaios randomizados e controlados.

Neste sentido, tendo em conta os resultados observados neste trabalho, serão necessários estudos posteriores de forma a complementá-los. Sugere-se assim, a avaliação de outros parâmetros, nomeadamente o doseamento de marcadores inflamatórios antes e após o tratamento termal. No que se refere à avaliação microbiológica da eficácia da crenoterapia sugere-se, por um lado, a avaliação das alterações da flora microbiana à luz da etiologia de cada patologia e, por outro lado, sugere-se a avaliação do efeito bactericida das águas termais na estrutura bacteriana. A avaliação das alterações microbiológicas em vários momentos após a terapia termal, de modo a estudar-se os efeitos a longo/curto prazo deste tipo de tratamento, será também importante.

## **VI- Referências Bibliográficas**

---

- Alexandre, C. (2003). Estudo Historiográfico das Termas do Cró. Sabugal: Câmara Municipal do Sabugal.
- Almeida, C., Calado, C. (1993). Chemedical Components of Deep Origin in Sulphide Waters of the Portuguese Setor of the Hesperian Massif. In "Hydrogeology of Hard Rocks" . Memoires of the XXIVth Congress IAH, pp. 377-387. Oslo: Geological Survey of Norway.
- Almeida, M. and Cabeda, J. (2007). Sintomatologia e Diagnóstico Laboratorial da Rinite Alérgica em estudantes e trabalhadores da Industria Química. .Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade do Porto 1, 146-157.
- Amaral, H. A. M. (2010). Evidências científicas da mecina termal - Crenoterapia. In Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar, pp. 2-7. Porto: Universidade do Porto.
- APRH (Associação Portuguesa de Recursos Hídricos) (2008, 11 de setembro de 2011). "Águas Subterrâneas." Acedido 23/05/2011, disponível em: [http://www.aprh.pt/pdf/triptico\\_CEAS.pdf](http://www.aprh.pt/pdf/triptico_CEAS.pdf)
- ATP (Associação de Termas de Portugal). (2011, 30 de setembro). "Classificação das Águas." Acedido 23/05/2011, disponível em: <http://www.termasdeportugal.pt/classificacao/>.
- Arion, D. e Wang, Y. (2005). Simply Allergic Rhinitis. Innovation and Expertise in Allergy, 5-17.
- ATP (Associação de Termas de Portugal). (2011, 2011). "Glossário Termal." Acedido em 20/04/2011, 2011, de <http://www.termasdeportugal.pt/glossario/ATP>. (2011a). Classificação das Águas, vol 2011 .Associação Termas de Portugal.
- Bacher, C. (2007). Staphylococcal superantigen effects, their impact and diagnosis. Chemical Immunology Allergy 93, 214-36.
- Baleiras, S. (2008). Os benefícios das águas termais. In Hospital da Luz revista, vol. 2 pp. 76-77. Lisboa: Hospital da Luz.
- Bender, T., Balint, P. V. e Balint, G. P. (2002). A brief history of spa therapy. Annales Rheumatology Disease. 61, 273-275.
- Bender, T., Bariska, J., Vághy, R., Gomez, R. e Kovács, I. (2007). Effect of balneotherapy on the antioxidant system- a controll pilot study. Archives Medical Reserch 38, 86-9.
- Bender, T., Karagulle, Z., Bálint, G. P., Gutenbrunner, C. e V.Bálint, P. (2005). Hydrotherapy, balneotherapy, and spa treatment in pain management. Rheumatology International 25, 220-224.
- Bio-Rad. (2011). Pastorex Staph Plus Kit, vol. 2011. Bio-Rad

- bioMérieux. (2009). Informação de produtos dos sistemas VITEK® 2 Systems: bioMérieux.
- bioMérieux. (2011). VITEK® 2 Compact, vol. 2011. bioMérieux
- Braback, L., Hjern, A. e F.Rasmussen. (2005). Social class in asthma and allergic rhinitis: a national cohort study over three decades. *European Respiratory Journal* 26 1064-1068.
- Broide, D. (2010). Allergic rhinitis: Pathophysiology. *Allergy Asthma Proceedings*. 31, 370-4.
- Brook, I. (2005). The role of bacterial interference in Otitis, Sinusitis and Tonsillitis. *Otolaryngology* 133.
- Calado, C. M. A. (1995). Notícia Explicativa - Carta De Nascentes Minerais, pp. 1-17. Lisboa: Direção Geral do Ambiente.
- Carroll, K. e Reimer, L. (1996). Microbiology and Laboratory Diagnosis of Upper Respiratory Tract Infections *Clinical Infectious Diseases*, 442-448.
- Cauwenberge, P., Ciprandi, G. e Vermeiren, J. (2001). Epidemiology of allergic rhinitis. *The UBC Institute of Allergy* 1, 5- 24.
- Cavaleiro, V. M. P., Gomes, L. M. F. e Riscado, J. F. M. C. (2006). Aspetos geoambientais e cartografia de Vulnerabilidade das Termas - Caldas do Cró com recurso aos Sistemas de Informação Geográfica. In 8º Congresso da água - Água ,Sede sustentabilidade!, pp. 1-14. Figueira da Foz: Associação Portuguesa de Recursos Hídricos.
- Chamberlain, N. R. (2009). *Medical Microbiology*. Mac Graw Hill. Lisboa.
- Ciprandi, G. (2010). Clinical utility and patient adherence with ebastine for allergic rhinitis. *Dovepress* 4, 389-95.
- Coccheri, S., G.Gasbarrini, M.Valenti, G.Nappi e Orio, F. D. (2007). Has time come for a reassessment of spa therapy? The NAIAD survey in Italy. *International Journal Biometeorology* 52, 231-237.
- Crombruggen, K. V., Zhang, N., Gevaert, P. e Tomassen, P. (2011). Pathogenesis of chronic rhinosinusitis : Inflammation. *Journal Allergy Clinical Immunology* 128.
- Cruckshank, Duguid, J. P., B.P.Marmion e Swain, C. H. A. (1993). *Microbiologia Médica*. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian.
- Diegues, P. e Martins, V. (2010). Aguas termais riscos e benefícios para a saúde. In Encontro Técnico - água e saúde, (D. G. d. Saúde), pp. 1-70. Caparica: Ministério da Saúde.

- Europeu, P. e Europeia, C. d. U. (2009). Diretiva do Parlamento Europeu e do Conselho relativa à exploração e à comercialização de águas minerais naturais, vol. DIRETIVA 2009/54/CE de 18 de junho de 2009 (. Jornal oficial da União Europeia.
- Eyzaguirre, F. M. (2008). Importancia de la micina termal. *Balnea* 4, 35-50.
- Ferreira, W. e Sousa, J. (2000a). Microbiologia. Lisboa: Lidel- Edições Técnicas.
- Ferreira, W. F. C. e Sousa, J. C. F. d. (2000b). Microbiologia. Porto.
- Fonseca, A. B., Sebastiao, C. e Martins, F. J. C. (2004). Orientações para a elaboração de um manual de boas práticas em bacteriologia. Lisboa: Ministério da Saúde - Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge.
- Forbes, B. A., Sahm, D. F. e Weissfield, A. S. (2002). *Diagnostic Microbiology*. Louis.
- Friedman, M., Vidyasagar, R. e Joseph, N. (2006). A randomized, prospective, double-blind study on the efficacy of dead sea salt nasal irrigations. *Laryngoscope* 116, 878-82.
- Gomes, D. C. (2010). Eficácia de crenoterapia no tratamento de Rinossinusite. In Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, pp. 3-20. Porto: Universidade do Porto.
- Grande, N. (2008). Recursos termais em Portugal: aspetos médicos e sociais, pp. 1-4. Porto: Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar,.
- Hamilos, D. L. (2011). Chronic Rhinosinusitis: Epidemiology and medical management. *Journal Allergy Clinical Immunology* 128, 693-707.
- Harrison, T. R., Resnick, W. R. e Wintrobe, M. M. (2002). *Harrison - Medicina Interna*. Rio de Janeiro: The McGraw-Hill Companies.
- Imöhl, M., Reinert, R., Ocklenburg, C. e Liden, M. (2010). Epidemiology invasive *Streptococcus pyogenes* disease in Germany during 2003-2007. *Immunology & Microbiology*, 8.
- Jackson, R. (1990). Waters and SPAS in the classical world. *Medical History* 10, 1-13.
- Kanafani, Z. e Vance, F. (2006). *Staphylococcus aureus* Infections: New Challenges de an Old Pathogen. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 24, 182-193.
- Kariyawasam, H. H. e Scadding, G. K. (2011). Chronic Rhinosinusitis: therapeutic efficacy of anti-inflammatory and antibiotic approaches. *Allergy Asthma Immunol Research* 3, 226-235.



- Konno, M., Baba, S., Mikawa, H. e Hara, K. (2007). Study of nasopharyngeal bacterial flora. Variations in nasopharyngeal bacterial flora in schoolchildren and adults when administer antimicrobial agents. Jounal Infectious Chemotheraphy 2007, 235-254.
- Kuby, J. e Goldsby, R. (2003). Immunology New York: W.H. Freeman and Company.
- Kurimoto, T., Tonari, M. e Ishizaki, N. (2011). A case of eosinophilic Chronic rhinosinusitis associat with optic neuropathy. Clinical Ophthalmology 5, 853-856.
- Larson, D. A. e Han, J. K. (2011). Microbiology of sinusitis: does allergy or endoscopic sinus surgery effect the microbiologic flora? wolkers Kluwer Health, 199-203.
- Lemaire, S., Fuda, C., Bambeke, F. V., Tulkens, P. e Mobashery, S. (2008). Restoration of Susceptibility of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to {beta}-Lactam Antibiotics by Acidic pH: Role of penicillin-binding protein PBP 2a. Journal Biological Chemotherapy 9, 12769-12776.
- Lim, D. (1998). Microbiology. McGraw-Hill companies New york.
- Laboratório Nacional de Energia e Geologia LNEG. (2001). Água Subterrânea conhecer para Proteger e Preservar, (GrafTime): Laboratorio nacional de Energia e Geologia.
- Lysenko, E. S., Ratner, A. J., Nelson, A. L. e weiser, J. N. (2005). The role of innate immune responses in the outcome of interspecies competition for colonization of mucosal surfaces. weiser JN 1, 3-11.
- Maguire, G., Arthur, A., Boustead, P., Dwyer, B. e Currie, B. (1998). Clinical experience and outcomes of community-acquir and nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a northern Australian hospital. Jounal Hospital Infecttions 38, 273-81.
- Mahon, C. R., Lehman, D. c. e Manuselis, G. (2007). Textbook of Diagnostic Microbiology. S. Louis , Missouri.
- Mais, S. (2011). Indicações Terapêuticas, vol. 2011 Sabugal Mais Acedido a 11/11/2011 Acedido, disponivel em: <http://www.termasdocro.com/indicacoes.asp>
- Manso, A. e Manso, F. (2008). As termas do Cró. In Praça Velha- Revista Cultural da Cidade da Guarda, vol. 23 , pp. 86-97. Guarda: Nucleo de Animação Cultural - Câmara Municipal da Guarda.
- Matz, H., Orion, E. and Wolf, R. (2003). Balneotherapy in dermatology. Dermatology Therapy 16, 132-140.

- Meltzer, E. O., Bachert, C. e Staudinger, H. (2005). Treating acute rhinosinusitis: comparing efficacy and safety of mometasone furoate nasal spray, amoxicillin, and placebo. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 116, 1289-95.
- Ministério, A. d. R. e. P. (2004a). I SÉRIE A, vol. Decreto -Lei nº 90/90 de 25 de março (Diário da República).
- Ministério, I. e. E. (1990). I SÉRIE. In Decreto-lei 90/90 de 16 de março, vol. I (Diário da República.)
- Ministério, S. (2004b). I SÉRIE -A, vol. Decreto lei nº 142/2004 de 11 de junho (M. d. Saude). Diário da Republica.
- Mirandola, P., Gobbi, G., Sponzilli, I. e Pambianco, M. (2007). Exogenous Hydrogen Sulfide induces functional inhibition and cell death of cytotoxic lymphocytes subsets. *journal of Cellular Physiology* 213, 826-833.
- Mora, R., Salami, A., Casazza, A., Passali, G. C., Cordone, M. P. e Mora, F. (2003). Treatment of Specific Allergic Rhinitis with Salso-bromo-iodine Water: One Year of Therapy. *International Archives of Otorhinolaryngology* 7, 241-246.
- Mucci, T., Govindaraj, S. e Tversky, J. (2011). Allergic Rhinitis. *Mount Sinai School of Medicine* 78, 634-644.
- Mullol, J. (2005). Lleva la rinitis al asma. *Global Allergy e Asma European Network* 1, 3-9.
- Murray, P. R., Rosenthal, K. S. e Pfaller, M. A. (2002). *Medical Microbiology*. USA: Mosby Elsevier Health Science.
- Nakayama, T., Yoshikawa, M. e Asaka, D. (2011). Mucosal eosinophilia a recurrence of nasal polyps - new classification of chronic rhinosinusitis. *Rhinology* 49, 392-6.
- Nasermoaddeli, A. a Kagaminor, S. (2005). Balneotherapy in Medicine: A Review. *Environmental Health and Preventive Medicine* 10, 171-179.
- Neufeld, P. M., Leite, C. Q. F., Sato, D. N. a Silva, C. H. M. e. (2006). *Bacteriologia e Micologia para o laboratório Clínico*. Rio de Janeiro.
- OMS and DGS. (2008). *Vigilância Global, prevenção e controlo das doenças respiratórias crónicas - Uma abordagem integrada*, vol. 2011 (. D. G. d. Saúde and O. M. d. saude). Lisboa: Worl Heath Organization Press.

- Ottaviano, G., Marioni, G., Staffieri, C., Giacomelli, L., Marchese-Ragona, R. and Bertolin, A. (2010). Effects of sulfurous, salty, bromic, iodine thermal water nasal irrigations in nonallergic chronic rhinosinusitis: a prospective, randomized, double-blind, clinical, and cytological study. *American Journal of Otolaryngology*.
- Pawankar, R., Lee, K., Nonaka, M. and Takizawa, R. (2007). Role of mast cells and basophiles in chronic rhinosinusitis. *Clinical Allergy Immunology* 20, 93-101.
- Pereira, M. P. (1991). As águas Sulfúreas Sódicas das Termas de Unhais da Serra e de Manteigas. In Departamento de Química, pp. 7-33. Covilhã: Universidade da Beira Interior.
- Petraccia, L., Liberati, G., Masciullo, S. G., Grassi, M. and Fraioli, A. (2006). Water, mineral waters and health. *Clinical Nutrition* 25, 377-385.
- Pfaar, O., Raap, U. and Holz, M. (2009). Pathophysiology of itching and sneezing in allergic rhinitis. *SWISS MEDICAL WEEKLY* 139, 35-40.
- Portugal, Termas (2007). "Estatística 2011 " Acedido a 11/11/2011 Acedido, disponível em: <http://www.termas.com.pt/associacao/estatisticas/default.asp>
- Rabago, D., Zgierska, A., Mundt, M., Barrett, B., Bobula, J. and Maberry, R. (2002). Efficacy of daily hypertonic saline nasal irrigation among patients with sinusitis: a randomized controlled trial. *Journal of Pharmacy Practice* 51, 1049-55.
- Randón, C., Fernandez, J. and Canto, G. (2010). Local Allergic Rhinitis: Concept, clinical manifestations and diagnostic Approach. *Journal of Investigational Allergology Clinical Immunology* 20, 364-371.
- Refaat, M. M., Ahm, T. M., Ashour, Z. A. and Atia, M. Y. (2009). Immunological role of nasal *Staphylococcus aureus* carriage in patients with persistent allergic rhinitis. *Pan African Medical Journal* 1, 1-5.
- Roques, C.-F. and Queneau, P. (2009). Panorama de la Recherche Thermale des trois dernières Années. *Press Thermal Climatology* 146, 107-121.
- Sabugal, C. M. d. (2006a). Turismo e lazer: Termas do Cró, Sabugal: Câmara Municipal do Sabugal.
- Sabugal, C. M. d. (2006b). Turismo e lazer: Termas do Cró, vol. 2011: Câmara Municipal do Sabugal.
- Salami, A., Dellepiane, M., Crippa, B., Mora, F., Guastini, L. and Jankowska, B. (2008). Sulphurous water inhalations in the prophylaxis of recurrent upper respiratory tract infections. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology* 72, 1717-1722.

- Salami, A., Dellepiane, M., Strinati, F. e Guastini, L. (2010). Sulphurous thermal water inhalations in the treatment of chronic rhinosinusitis. *Rhinology* 48, 71-76.
- Sattler, C. e Armando, C. (2004.). Coagulase-positive Staphylococcal infections (*Staphylococcus aureus*). Philadelphia: Saunders.
- Saude, M. d. (2010). Enciclopédia da saúde: doenças respiratórias vol. 2011: Portal da saúde - Ministério da Saúde.
- Saúde, M. d. (2008). SERÍE I-A, vol. Despacho n.º 8047/2008, de 18 de março de 2008 (M. d. Saúde): Diário da República.
- Scadding, G. K., Durham, S. R. e Mirakian, R. (2007). BSACI guidelines for the management of rhinosinusitis and nasal polyposis. *Clinical and Experimental Allergy* 38, 260-275.
- Seeley, R. R., Stephens, T. D. e Tate, P. (2005). Anatomia e Fisiologia. Lisboa: Lusodidacta.
- Silva, M. L. (2010). Termas em Portugal- A oferta e a procura em 2009, ( . D. Informação), pp. 1-19. Lisboa: Turismo de Portugal.
- Simões, M. (1993). Águas minerais portuguesas. Da sua caracterização físico-química ao esboço de uma classificação. *Boletim de Minas -DGGM* 30, 13-26.
- Staffeiri, A. e Abramo, A. (2007). Sulphurous-arsenical-ferruginous (thermal) water inhalations ruce nasal respiratory resistance and improve mucociliary clearance in patients with chronic sinonasal disease: preliminary outcomes. *American Journal Otolaryngology* 127, 613-7.
- Staffeiri, A., Mariano, F., Staffieri, C., Giacomelli, L., D'Alessandro, E., Ferraro, S. M., Frazzoni, U. e Marioni, G. (2008.). The effects of sulfurous-arsenical-ferruginous thermal water nasal irrigation in wound healing after functional endoscopic sinus surgery for chronic rhinosinusitis: a prospective randomiz study. *American Journal Otolaryngology* 29, 223-9.
- Teixeira, F. (2011). Água termal ajuda a respirar melhor, vol. 2011.
- Tortora, G., Funke, B. and Case, C. (2002). Microbiology- An Introduction. San Francisco: Benjamin Cummings.
- Via, G. D. (2000). Hidroterapia. Lisboa: Editorial Estampa,Lda.
- Vieira, C. S. E. (2008). Caracterização evolutiva das Termas de São Jorge nos últimos 11 anos. In Instituto de ciências Biomédicas Abel Salazar, pp. 3-5. Porto: Universidade do Porto.

Vitovski, S., Dunkin, K. T., Howard, A. J. e Sayers, J. R. (2002). Notypeable *Haemophilus influenzae* in carriage and disease. American Medical Association 287, 1700-1705.

Weisz, G. (2001). Spas, Mineral Waters e Hydrological Science in twentieth-century. France Isis 92, 451-483.

Westwrgren, V., Wilson, S., Penrose, J., Howarth, P. e Sampson, A. (2009). Nasal mucosal expression of the leukotriene and prostanoid pathways in seasonal and perennial allergic rhinitis. Clinical Experimental Allergy 39, 820-828.

Worrall, G. (2011). Acute sinusitis. Canadian Famaly Physician- Le Médecin de Famille Canadien 57, 565-567.

Wu, S., Zhang, R., Huang, D., Geng, Y., Gao, S., Li, X. and Hu, Z. (2010). Immune reaction characteristics an the mechanism of anergy induc by recombinant enterotoxin A of *Staphylococcus aureus*. Journal Biomedical Science e Engineering. 3, 543-549.

Zelding, Y., Weiler and Cohen, A. (2008). Efficacy of nasal *Staphylococcus aureus* eradication by topical nasal mupirocin in patients with perennial allergic rhinitis. Annales Allergy Asthma Immunology, 608-611.

.

## **VII- Anexos**

---

---

**Anexo 1****Universidade de Aveiro – Departamento de Biologia****Consentimento informado - colheita de Zaragatoas da nasal e da orofaringe**

Define-se por termalismo o uso da água termal outros meios complementares para fins de prevenção, terapêutica, reabilitação ou bem-estar. Avaliar o seu estado de saúde antes e após o tratamento termal é por isso muito importante.

Assim, vimos pedir o seu consentimento para a recolha de exsudados nasais e da orofaringe e para a sua utilização, já que poderão ser úteis para melhorar o diagnóstico de doenças que o/a possam afetar. Será garantida a manutenção da confidencialidade bem como de todas as obrigações legais sobre armazenamento de amostras biológicas.

Poderá a qualquer momento revogar este consentimento e solicitar que as suas amostras sejam eliminadas sem ter de dar explicações das suas razões e sem que isso o/a penalize, bastando para tal contactar o responsável do projeto de investigação.

Esclarece-se que a investigação não terá qualquer interesse comercial ou fim lucrativo sendo apenas para fins académicos e estatísticos no âmbito da unidade curricular de “Tese de dissertação”; os dados recolhidos serão totalmente sigilosos e apenas os resultados do estudo serão divulgados.

O responsável pela investigação,

O Orientador da investigação,

Li, compreendi e consinto que as minhas amostras sejam recolhidas e usadas apenas durante o processo de investigação.

Ass. \_\_\_\_\_

---

Nº Ref. \_\_\_\_\_

Preencha com letra de imprensa

**Data início:**

**Data final:**

**Parte I – Dados pessoais**

1. Nome Completo \_\_\_\_\_
2. Sexo:
  - a. Feminino
  - b. Masculino
3. Idade: \_\_\_\_\_ (Anos)
4. Habilitações literárias:
  - a. Sem habilitações literárias
  - b. 4º Ano
  - c. 9º Ano
  - d. 12º Ano
  - e. Licenciatura
  - f. Estudos Avançados (Pós-graduação, Mestrado, Doutorado)
5. Peso
  - a. Peso Inicial \_\_\_\_\_(kg) / b. Peso final \_\_\_\_\_ (kg)



**Parte II – Dados clínicos**

1. De que problema Respiratório sofre:
  - a. Rinite
  - b. Sinusite
  - c. Rinossinusite
  - d. Outra doença respiratória

Caso sofra de outra doença respiratória Termine por aqui, **Obrigado pela Colaboração. Caso sofra de Sinusite ou de Rinite avance respetivamente para a questão número 2 ou 3.**

2. Sofre de Rinite crónica:
  - a. Alérgica
  - b. Atrófica
  - c. Vasomotora
3. Sofre de Sinusite:
  - a. Alérgica
  - b. Infeciosa
  - c. Traumática
4. Com que idade lhe foi diagnosticado a patologia?
  - a. 10-20
  - b. 21-30
  - c. 31-45
  - d. 46-60
  - e. Mais de 60
5. Os sintomas associados à doença ocorrem sobretudo no/ (a):
  - a. Primavera
  - b. Verão
  - c. Outono

- 
- d. Inverno
  - e. Todas as estações do ano
6. É fumador?
- a. Sim
  - b. Não
  - c. Ex-fumador
- 6.1 Se sim ou é ex-fumador, que idade tinha quando começou a fumar?
- i. 5-15anos
  - ii. 16-30 anos
  - iii. 31-50 anos
  - iv. Idade superior aos 50 anos
- 6.2 Em média quantos cigarros fuma/fumava por dia?
- i. 0-5
  - ii. 6-10
  - iii. 11-20
  - iv. Superior a 20
- 6.3 Se é ex-fumador com que idade deixou de fumar?
- i. 20-30 anos
  - ii. 31- 40 anos
  - iii. 41-50 anos
  - iv. Idade superior aos 50 anos

Caso seja **mulher com ciclo menstrual** responda á pergunta que se segue, caso contrário prossiga o questionário para a pergunta 8. **Obrigado.**

7. Utiliza métodos contraceptivos?
- a) Sim
  - b) Não
- 7.1 Se sim, a que tipos de anticoncecionais recorre?
- i. Pílula
  - ii. Diu
  - iii. Outros

8. Durante o ciclo menstrual sente em algum momento que os sintomas de Rinite se agravam?
- a. Sim, na semana da menstruação
  - b. Sim, após a semana da menstruação
  - c. Sim, noutro momento do ciclo.
  - d. Não sinto qualquer alteração ou agravamento dos sintomas

9. Já fez cirurgia às amígdalas/adenoides ouvido?

- a. Sim
- b. Não

9.1 Com que idade?

- i. 2-10 anos
- ii. 11-20 anos
- iii. 21-30 anos
- iv. 31-40 anos
- v. Superior a 40anos

10. Estes sintomas já restringiram as suas atividades regulares em casa, no trabalho ou na prática desportiva?

- a. Sim
- b. Não

11. Já recorreu ao serviço de Urgência hospitalar devido ao agravamento de sintomas?

- a. Sim
- b. Não

**Caso Sofra de *Sinusite* avance para a questão 15**

12. Quando os sintomas aparecem são:

- a. Intermitentes (menos de 4 dias numa semana e menos de 4 semanas consecutivas)
- b. Persistentes (mais de 4 dias numa semana e mais de 4 semanas consecutivas)

13. Alguma vez teve sibilos?

- a. Sim
- b. Não

14. Nos últimos doze meses teve sibilos?

a. Sim

b. Não

13.1 Se sim, quantos episódios sibilância teve?

i. 1-3

ii. 4-12

iii. Mais de 12

15. Nos últimos 12 meses já acordou durante a noite por agravamento dos sintomas da patologia?

a. Sim

b. Não

14.1 Se sim, com que frequência?

i. Todas as noites

ii. Mais de uma vez por semana mas não na maioria das noites

iii. Pelo menos duas vezes por mês

iv. Menos de duas noites por mês

16. Nos últimos doze meses teve algum tipo de infecção respiratória?

a. Sim

b. Não

17. Nos últimos doze meses teve sintomas como espirros, corrimento e congestão nasal quando não estava constipado ou com gripe?

a. Sim

b. Não

**Responda á questão seguinte apenas se sofrer de Sinusite/ Rinossinusite ,caso contrario avance para a questão 19**

18. Para diagnóstico da Sinusite/Rinossinusite foi realizado algum raio-X ou tomografia computadorizada?

- a. Sim
- b. Não

19. A escala representada pretende avaliar a intensidade dos seus sintomas diariamente. Dentro desta escala pode escolher um intervalo. Dentro desta escala pode escolher um intervalo.

0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10

A escala representada pretende avaliar o nível de intensidade de dor articular que sente.

O **nível 0** significa que não se sente afetado

O **nível 10** que sente alterações significativas

### **Parte III – Dados sobre Termalismo**

1. Quem lhe recomendou o tratamento termal?

- a. Aconselhamento Médico
- b. Decisão Pessoal

2. Com que frequência anual recorre ao termalismo?

- a. 1 Vez /ano
- b. 2 Vezes/ano
- c. Mais de 2 vezes /ano

---

3. Desde quando recorre a tratamentos termais?

- a. 1º Vez
- b. Desde há um ano
- c. Entre 2 e 5 anos
- d. Entre 6 e 10 anos
- e. Mais de 10 anos

3.1. Se faz realiza tratamentos termais à mais de 10 anos, à quantos anos faz?

\_\_\_\_\_

4. Recorre ao termalismo como:

- a. Única Terapêutica
- b. Auxiliar à Terapêutica Farmacológica

4.1. Que terapêutica recorre durante o tratamento termal? \_\_\_\_\_

5. Que tipo de tratamentos faz na estância?

- a. Nebulização individual
- b. Irrigação nasal
- c. Aerossol sónico
- d. Pulverização faríngea
- e. Todas as anteriores

5.1. Qual a duração dos tratamentos? \_\_\_\_\_

**Caso seja a primeira vez que realiza tratamentos termais avance para a questão 13.**

6. Na sua opinião, de entre os tratamentos referidos anteriormente, qual se revela mais eficaz?

\_\_\_\_\_

7. Ingere água termal?

- a. Sim
- b. Não

7.1 Se sim, quantos litros bebe por dia:

- i. Menos de 0.5L
- ii. Entre 0.5L e 1.5L
- iii. Mais de 1.5L

8. Qual a duração do tratamento termal atual?

- a. 11Dias
- b. Entre 12 a 13 dias
- c. Entre de 14 a 15 dias
- d. Mais de 15dias

9. No final dos tratamentos sente que:

- a. Melhorou Consideravelmente
- b. Não Melhorou
- c. Piorou

10. Após o tratamento termal diminuiu a toma de medicamentos para a patologia?

- a. Sim
- b. Não

11. Os efeitos da terapia termal manifestam-se:

- a. A longo prazo (superior a 9 meses)
- b. A Médio /Curto prazo (3 a 9 meses)

12. Após o tratamento termal sente melhorias na sua qualidade de vida?

- a. Sim

---

b. Não

13. Durante os tratamentos termais recorre à terapêutica farmacológica?

a. Sim

b. Não

14.1 se sim, qual?

i. Antibióticos  
Quais \_\_\_\_\_

ii. Descongestionantes  
Quais \_\_\_\_\_

iii. Corticoides inalados  
Quais \_\_\_\_\_

iv. Corticoides em comprimidos  
Quais \_\_\_\_\_

v. Anti-Histaminicos  
Quais \_\_\_\_\_

*Obrigado pela disponibilidade*